

**Aus dem Veterinärwissenschaftlichen Department
der Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität München**

Arbeit angefertigt unter der Leitung von
Univ.-Prof. Dr. med. vet. Manfred Stangassinger

**Zur Stressreaktivität von Legehennen zweier Hybridlinien
(LB und LSL) nach körperlicher Fixation („Flügelkreuzen“):
Die Körpertemperatur, der Konzentrationsverlauf ausgewählter
Blutparameter und die kognitive Leistungsfähigkeit im
Y-Lauflabyrinth als Beurteilungskriterium**

Inaugural-Dissertation zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät

der Ludwig-Maximilians-Universität München

von

Denice Helga Parshad

aus München

München 2014

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Dekan: Univ.-Prof. Dr. Joachim Braun
Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. Manfred Stangassinger
Korreferent: Univ.-Prof. Dr. Dr. Michael H. Erhard

Tag der Promotion: 08. Februar 2014

für meine Familie

1	Einleitung und Ziel der Studie	1
2	Literaturübersicht	3
2.1	Abstammung und Züchtung der Legehennen	3
2.2	Definition von Stress	4
2.3	Zur physiologischen Bedeutung des Hormons Kortikosteron	6
2.3.1	Kortikosteron beim Vogel	6
2.3.2	Basale Kortikosteronkonzentrationen im peripheren Blut von Hühnern	7
2.3.3	Effekte einer erhöhten Kortikosteronkonzentration	8
2.3.3.1	Metabolische Effekte	8
2.3.3.2	Effekte auf das Verhalten	9
2.4	Zusammenhang von Stress und der Kortikosteron- konzentration im Blut	10
2.4.1	Stressinduzierter Anstieg von Kortikosteron	10
2.4.2	Maßnahmen, die als Stressor wirken, weil sie die Kortikosteron- konzentration im Blutplasma erhöhen	10
2.5	Die Blutglukosekonzentration als Stressparameter	13
2.6	Die Blutharnsäurekonzentration als Stressparameter	15
2.7	Die Konzentration der Freien Fettsäuren im Blut als Stressparameter	16
2.8	Die Körperkerntemperatur als Stressparameter	17
2.9	Unterschiede in physiologischen Merkmalen von Hybridlegelinien	19
2.10	Kognition, Verhalten, Stress und Kortikosteron	21
3	Material & Methoden	28
3.1	Versuchstiere und tierexperimentelle Vorgehensweise	28
3.2	Haltung, Fütterung, Handling	29
3.3	Blutentnahmen, Kontrolle der Körpertemperatur und Stressinduktion	31
3.4	Laboranalytische Methoden	33
3.4.1	Ermittlung des Kortikosterongehalts in den Blutplasmaproben	33
3.4.2	Validierung des ELISA-Kits	35
3.4.3	Messung weiterer Parameter im Blutplasma	37
3.4.3.1	Glukose-Bestimmung	37
3.4.3.2	Harnsäure-Bestimmung	38
3.4.3.3	Freie Fettsäuren-Bestimmung	38
3.4.4	Statistische Auswertung und graphische Darstellung der Messergebnisse	39
3.5	Lern- und Verhaltensuntersuchungen	40
3.5.1	Versuchsaufbau	40
3.5.2	Versuchsablauf	41

Inhaltsverzeichnis

3.5.3	Statistische Auswertung der Lernversuche	44
4	Ergebnisse	45
4.1	Die körperliche Immobilisierung als Stressor beim Huhn	45
4.1.1	Standardisierbarkeit und Reproduzierbarkeit der Maßnahme	45
4.2	Stress-Analyse mittels quantitativer Untersuchung von spezifischen Parametern im Blutplasma	50
4.2.1	Die Konzentration von Kortikosteron bei Legehennen der LB-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen	50
4.2.1.1	Vergleich der mittleren Kortikosteronwerte in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere	50
4.2.1.2	Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Kortikosteronkonzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1	53
4.2.1.3	Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Kortikosteronkonzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zu den ZP 2-5	55
4.2.2	Die Konzentration von Kortikosteron bei Legehennen der LSL-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen	56
4.2.2.1	Vergleich der mittleren Kortikosteronwerte in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere	56
4.2.2.2	Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Kortikosteronkonzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1	59
4.2.2.3	Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Kortikosteronkonzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zu den ZP 2-5	61
4.2.3	Vergleich der behandlungsidentischen (Kontrolle bzw. Stressor) Kortikosteronkonzentration im Beobachtungszeitraum bei den Hybridlinien LB und LSL	62
4.2.4	Die Konzentration von Glukose bei Legehennen der LB-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen	72
4.2.4.1	Vergleich der mittleren Glukosewerte in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere	72
4.2.4.2	Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Glukosekonzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1	75
4.2.4.3	Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Glukosekonzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zu den ZP 2-5	76
4.2.5	Die Konzentration von Glukose bei Legehennen der LSL-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen	78

Inhaltsverzeichnis

4.2.5.1	Vergleich der mittleren Glukosewerte in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere	78
4.2.5.2	Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Glukosekonzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1	81
4.2.5.3	Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Glukosekonzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zu den ZP 2-5	81
4.2.6	Vergleich der behandlungsidentischen (Kontrolle bzw. Stressor) Glukosekonzentration im Beobachtungszeitraum bei den Hybridlinien LB und LSL	83
4.2.7	Die Konzentration von Harnsäure bei Legehennen der LB-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen	87
4.2.7.1	Vergleich der mittleren Harnsäurewerte in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere	87
4.2.7.2	Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Harnsäurekonzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1	88
4.2.7.3	Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Harnsäurekonzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und Stressgruppe zu den ZP 2-5	88
4.2.8	Die Konzentration von Harnsäure bei Legehennen der LSL-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen	89
4.2.8.1	Vergleich der mittleren Harnsäurewerte in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere	89
4.2.8.2	Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Harnsäurekonzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1	90
4.2.8.3	Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Harnsäurekonzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und Stressgruppe zu den ZP 2-5	91
4.2.9	Vergleich der behandlungsidentischen (Kontrolle bzw. Stressor) Harnsäurekonzentration im Beobachtungszeitraum bei den Hybridlinien LB und LSL	91
4.2.10	Die Konzentration von Freien Fettsäuren bei Legehennen der LB-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen	95
4.2.10.1	Vergleich der mittleren Werte der Freien Fettsäuren in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere	95
4.2.10.2	Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Freien Fettsäure-Konzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1	96
4.2.10.3	Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Freien Fettsäure-Konzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und Stressgruppe zu den ZP 2-5	96

Inhaltsverzeichnis

4.2.11	Die Konzentration von Freien Fettsäuren bei Legehennen der LSL-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen	97
4.2.11.1	Vergleich der mittleren Werte der Freien Fettsäuren in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere	97
4.2.11.2	Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Freien Fettsäure-Konzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1	98
4.2.11.3	Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Freien Fettsäure-Konzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und Stressgruppe zu den ZP 2-5	99
4.2.12	Vergleich der behandlungsidentischen (Kontrolle bzw. Stressor) Freien Fettsäuren-Konzentration im Beobachtungszeitraum bei den Hybridlinien LB und LSL	99
4.3	Stress-Analyse mittels Körpertemperatur-Messungen	103
4.3.1	Die Körpertemperatur der Legehennen der LB-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen	103
4.3.1.1	Vergleich der mittleren Körpertemperatur der Stress- und der Kontrolltiere	103
4.3.1.2	Beurteilung der induzierten Stresssituation anhand der Körpertemperatur von LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zu den ZP 1-5	105
4.3.2	Die Körpertemperatur der Legehennen der LSL-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen	106
4.3.2.1	Vergleich der mittleren Körpertemperatur der Stress- und der Kontrolltiere	106
4.3.2..2	Beurteilung der induzierten Stresssituation anhand der Körpertemperatur von LSL-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zu den ZP 1-5	107
4.3.3	Vergleich der behandlungsidentischen (Kontrolle bzw. Stressor) Körpertemperatur im Beobachtungszeitraum bei den Hybridlinien LB und LSL	108
4.4	Stress-Analyse mittels Verhaltensuntersuchungen	112
4.4.1	Ergebnisse der Trainingsläufe 1-3	112
4.4.1.1	Hybridlinienspezifischer Futterverbrauch im Y-Labyrinth an den Trainingstagen 1-3	112
4.4.1.1.1	LB-Hybridlinie	112
4.4.1.1.2	LSL-Hybridlinie	113
4.4.1.1.3	Vergleich zwischen LB- und LSL-Linie	114
4.4.1.2	Hybridlinienspezifische Fresszeiten	115
4.4.1.2.1	LB-Hybridlinie	115
4.4.1.2.2	LSL-Hybridlinie	116
4.4.1.2.3	Vergleich zwischen LB- und LSL-Linie	117
4.4.1.3	Hybridlinienspezifische kognitive Leistungen	118
4.4.1.3.1	Anzahl der unmittelbar richtigen Läufe im Labyrinth	119
4.4.1.3.1.1	LB- Hybridlinie	119
4.4.1.3.1.2	LSL-Hybridlinie	120

Inhaltsverzeichnis

4.4.1.3.1.3	Vergleich zwischen LB- und LSL-Hennen	121
4.4.1.3.2	Aufmerksamkeit am 1. Trainingstag	122
4.4.1.3.3	Gedächtnisleistung der Hennen am 2. Trainingstag	124
4.4.1.3.4	Gedächtnisleistung der Hennen am 3. Trainingstag	125
4.4.2	Ergebnisse der Lernversuche an den Versuchstagen 1-3	127
4.4.2.1	Behandlungs- und hybridlinienspezifischer Futterverbrauch im Y-Labyrinth an den Versuchstagen 1-3	128
4.4.2.1.1	LB-Hybridlinie	128
4.4.2.1.2	LSL-Hybridlinie	129
4.4.2.1.3	Vergleich zwischen LB- und LSL-Linie	130
4.4.2.2	Behandlungs- und hybridlinienspezifische Fresszeiten im Y-Labyrinth an den Versuchstagen 1-3	131
4.4.2.2.1	LB-Hybridlinie	132
4.4.2.2.2	LSL-Hybridlinie	133
4.4.2.2.3	Vergleich zwischen LB- und LSL-Linie	134
4.4.3	Befunde zur kognitiven Leistung	136
4.4.3.1	Anzahl von Korrekturen für erfolgreiche Läufe im Labyrinth	137
4.4.3.2	Anzahl der unmittelbar richtigen Läufe im Labyrinth an allen Versuchstagen	139
4.4.3.2.1	LB-Hybridlinie	139
4.4.3.2.2	LSL-Hybridlinie	140
4.4.3.2.3	Vergleich zwischen LB- und LSL-Linie	141
4.4.3.2.4	Anzahl der unmittelbar hintereinander erfolgten richtigen Läufe während der Versuchstage 1-3	114
5	Diskussion	147
5.1	Auswirkungen der Immobilisierung auf die Konzentration von Kortikosteron im Blutplasma	147
5.2	Sind Befreiungsversuche aus der Immobilisierung Stress-relevant?	151
5.3	Auswirkungen der Immobilisierung auf die Konzentration der Glukose im Blutplasma	153
5.4	Auswirkungen der Immobilisierung auf die Konzentration der Harnsäure im Blutplasma	154
5.5	Auswirkungen der Immobilisierung auf die Konzentration von Freien Fettsäuren im Blutplasma	155
5.6	Einfluss der Immobilisierung auf die Körpertemperatur	156
5.7	Auswirkungen der Immobilisierung auf die Ergebnisse von Lern- und Verhaltensuntersuchungen im Y-Labyrinth	157
5.7.1	Trainingstage im Y-Labyrinth	157
5.7.2	Lernversuchstage im Y-Labyrinth	162
5.8	Gibt es Unterschiede in physiologischen Merkmalen von Hybridlegelinien?	169
6	Zusammenfassung	171

Inhaltsverzeichnis

7	Summary	174
8	Literaturverzeichnis	177
9	Abkürzungsverzeichnis	182

1 Einleitung und Ziel der Studie

Die kommerzielle Geflügelhaltung in Deutschland setzt sich aus verschiedenen Bereichen zusammen. Einer der Hauptzweige ist die Intensivhaltung von Legehennen. Nach Angaben des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) erreichte die Anzahl der Legehennen zum Stichtag 01.12.2012, 36,6 Millionen. Berücksichtigung fanden hierbei ausschließlich Betriebe mit einer Größe von mindestens 3000 Haltungsplätzen. Die Menge der produzierten Eier belief sich in den ersten elf Monaten des Jahres 2012 auf 9,7 Milliarden, eine Zunahme zum Vorjahreszeitraum um 9,9 Prozent.

Für diese intensive Hühnereiproduktion werden ausnahmslos Hybridtiere eingesetzt. Einen nicht unerheblichen Teil des Tierbestandes bilden dabei zwei verschiedene Hybridlinien, Lohmann Brown und Lohmann Selected Leghorn, die durch den weltweit führenden Produzenten Lohmann Tierzucht GmbH, Cuxhaven gezogen werden.

Infolge der Dimension, der dafür erforderlichen Tierställe, ergeben sich hinsichtlich des Managements außerordentliche Herausforderungen. So spielt neben einer art- und tierschutzgerechten Haltung und Fütterung der Legehennen, der Gesundheits- und Hygienestatus eine übergeordnete Rolle. Um diesen Status zu erfüllen, aufrecht zu erhalten und kontinuierlich zu verbessern sind ständige Kontrollen, Routinemaßnahmen und Behandlungen im Bestand erforderlich. Somit bleibt auch während der Legeperiode ein Handling der Tiere durch den Menschen nicht aus. Dennoch geht in dieser Art von Tierhaltung die Bedeutung des Einzeltieres verständlicherweise in Gänze verloren. Das Augenmerk fällt nicht mehr auf das Individuum, sondern auf die Gruppen und deren Entwicklungsdynamik. Dies bedeutet, Legehennen müssen sich in der jeweilig gebotenen Haltungsform zurecht finden, und zwar nicht nur um ausreichend Futter und Wasser aufzunehmen sondern, um darüber hinaus auch Komfort- und Sozialverhalten entwickeln und zeigen zu können.

Einleitung

Die vorliegende tierexperimentelle Studie an Tieren der o.g. beiden Hybridlinien widmete sich vorwiegend folgenden Fragen:

Geraten die für derartige „anonyme“ Massentierhaltungsformen gezüchteten Hybridlegehennen mittels eines spezifischen Handlings durch den Menschen am Individuum (z.B. durch das Kreuzen der Flügel zur körperlichen Fixation) in eine Stresssituation? Mittels welcher Blutparameter ist ein derartiger Stress nachweisbar? Zu welchen kognitiven Individualleistungen sind derartige Hennen noch fähig und inwieweit lässt sich diese Leistung durch das Handling als Stress beeinflussen? Und, gibt es in all diesen Erhebungen am Einzeltier Unterschiede zwischen den beiden Hybridlinien?

Da das Kreuzen der Flügel eine Methode darstellt, die einerseits als Individualstressor durch den Menschen anzusehen ist, und andererseits auch standardisierbar und gut reproduzierbar ist, war dieses Vorgehen als Stressinduktion Mittel der Wahl. Das Ausmaß des dadurch hervorgerufenen Stresszustandes sollte anhand verschiedener bekanntermaßen stressempfindlicher Blutparameter (Kortikosteron, Glukose, Harnsäure und Freie Fettsäuren) erfasst bzw. beschrieben werden. Hierbei wurde erwartet, dass in erster Linie Kortikosteron nicht nur einen Konzentrationsanstieg im Blutplasma sondern auch einen Bezug zur Stressintensität zeigt. Die Erfassung der Körperkerntemperatur sollte als weiteres Kriterium zur Beurteilung der Stressreaktion dienen. Zur Erfassung kognitiver Leistungen und deren Beeinflussung durch Stress diente ein Y-Lauflabyrinth. Die Tiere sollten dort Aufgaben unterschiedlicher Schwierigkeitsgrade absolvieren um dadurch erkennen zu lassen, ob sich der Stressor positiv oder negativ auf die Leistungsfähigkeit auswirkt. Bei allen Parametern sollte auch darauf geachtet werden, ob die beiden Hybridlegelinien die Stresssituation linienspezifisch unterschiedlich anzeigen bzw. bewältigen.

2 Literaturübersicht

2.1 Abstammung und Züchtung der Legehennen

Das Haushuhn (*Gallus gallus domesticus*) lässt sich auf die wilde Stammform, das südostasiatische Bankivahuhn (*Gallus gallus*), zurückführen. Systematisch handelt es sich dabei um die Familie der Phasianidae, welche der Ordnung der Galliformes zuzuteilen ist. Anfänge der Domestikation fanden in Asien bereits um 2000 v. Chr. statt (Kräußlich & Brem 1997).

Die heutige industrielle Geflügelproduktion basiert auf einer leistungsstarken Hybridzucht, die unter anderem die beiden Hybridlegelinien Lohmann Brown (LB) und Lohmann Selected Leghorn (LSL) hervorbringt. Ziel einer derartigen Zucht ist es, Merkmale für eine marktabhängige Leistungsstärke einer Linie (Elternlinie A) mit weiteren positiven Merkmalen einer zweiten Linie (Elternlinie B) zu kombinieren.

Um Zucht- und Produktionsergebnisse zu optimieren, übernehmen spezialisierte Betriebe jeweils nur eine Stufe im vertikal verlaufendem Ablauf der Legehennenproduktion (s. Abb. 2.1). Die Elterntiere selbst entstammen einem übergeordnetem Zuchtbetrieb (Nukleus Herden, Großelterntiere). Nach erfolgreicher Selektion der Elterntiere, werden diese für die Bruteierzeugung in einem entsprechenden Betrieb gehalten. Die hier produzierten Eier gelangen in eigens dafür vorgesehene Brütereien, die bis zum erfolgreichen Schlupf der Küken für diese verantwortlich sind. Im nächsten Schritt bewerkstelligen Aufzuchtbetriebe die Vorbereitung der Legehennen auf ihre spätere Nutzung. Dabei werden die Tiere an die bedarfsgerechte Futterration gewöhnt, aber auch durch gezielte Haltungsbedingungen, wie zum Beispiel die Gewöhnung an ein entsprechendes Lichtregime, auf die Haltung während der Legeperiode in einem Legebetrieb vorbereitet (Ellendorff 2006).

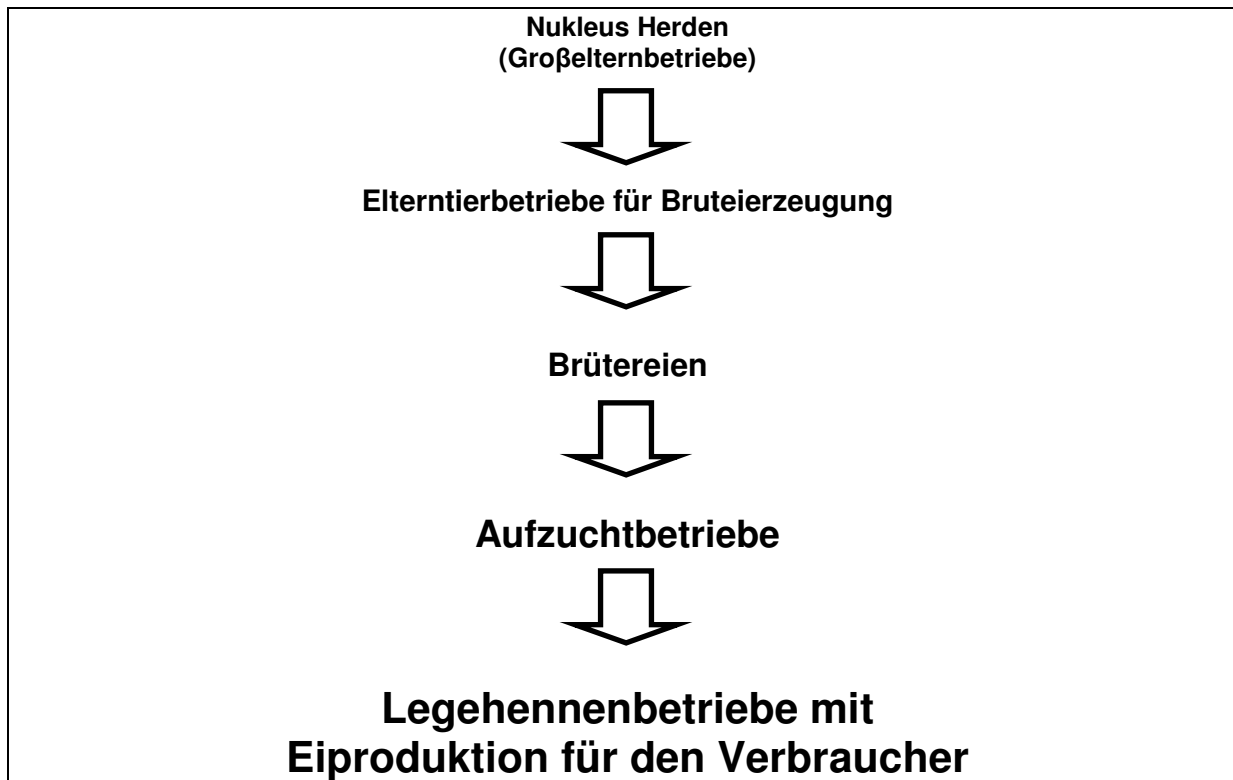


Abb. 2.1: Vertikaler Entwicklungsprozess von Legehennen- und Eiproduktion
(nach Ellendorff 2006)

2.2 Definition von Stress

Stress ist ein Begriff, der im aktuellen Sprachgebrauch auch unreflektiert mehr und mehr gebraucht wird. Doch wie lässt sich Stress definieren? Im Literaturbereich finden sich für die Bedeutung von Stress mannigfache Erklärungen.

Selye (1974) war einer der ersten Wissenschaftler, der eine Definition lieferte, die allerdings recht allgemein und weitläufig ausfiel. Er beschreibt in diesem Zusammenhang eine unspezifische körperliche Antwort, die durch einen Reiz ausgelöst wird. Creel (2001) hingegen drückt sich sehr viel spezieller aus. Unter anderem differenziert er, ob Stress sich entweder auf einen Zustand bezieht, der eine sichtbare Antwort provoziert, oder ob Stress von außen endogene Veränderungen hervorruft. Das heißt, es wird zwischen Stressor und Stressreaktivität unterschieden. Reize (Stimuli), die als Stressoren fungieren können, reihen sich in eine nicht klar abgrenzbare Reihe von Bedingungen und Situationen ein. So fungiert jeglicher Reiz,

hervorgerufen durch Verhalten oder Umweltbedingungen, als Stressor, wenn er Veränderungen in der Physiologie eines Individuums mit sich bringt, die auch mit einer gesteigerten endogenen Glukokortikoidausschüttung einhergehen. Etliche wissenschaftliche Untersuchungen belegen, dass, neben bestimmten physiologischen Veränderungen, der Konzentrationsanstieg von Glukokortikoiden im Blut bei unzähligen Spezies als ein direktes Maß für die Stressreaktivität geltend gemacht werden kann.

Auch Cockrem (2007) definiert Stress als einen Zustand, bei dem Kortikosteron ausgeschüttet wird. So lassen sich Stressoren nach ihrer Herkunft einteilen: Endogene Stressoren (physische Stressoren) sind Signale, die innerhalb des Körpers entstehen, z.B. wenn es zu Reaktionen auf physiologische Veränderung in den Geweben kommt. Exogene Stressoren beziehen sich auf Umstände, die aus der Umwelt stammen und mit einer Stressreaktion beantwortet werden. Man spricht von einem emotionalen Stressor, wenn der Reiz im limbischen System und eventuell auch in den kortikalen Gehirnregionen verarbeitet wird. Nach dieser Informationsverarbeitung folgen instinktive oder erlernte Verhaltensweisen (Cockrem 2007). Rosales (1994) definiert ebenso Stress und nimmt dabei gleichzeitig einen sehr engen Bezug zur Geflügelhaltung. Er erklärt Stress über vielfältige Situationen zustande kommend, die sich einerseits nachteilig auf Gesundheit und Habitus der Tiere auswirken können, und andererseits jedoch im Verhalten und der Physiologie des Tieres Reaktionen hervorrufen, die den betroffenen Tieren helfen, sich an neue Umstände zu gewöhnen. Allerdings schreibt er auch, dass Dauerbelastung, oder sich wiederholende Belastung, die Gesundheit der Tiere schwächt.

Reize (Stimuli) setzen einen entsprechenden Reaktionsablauf in Gang. Wird ein gewisser Reiz als Bedrohung und somit als Stressor empfunden, so resultieren eine Verhaltensänderung und die endogene Glukokortikoidausschüttung. Wird der Reiz hingegen als ungefährlich eingestuft, so ereignet sich entweder nur ein „automatisiertes“ reaktives Verhalten, oder aber es kommt zu einer Reaktion, die über das vegetative Nervensystem, den Nervus sympathicus, auch qualitativ gesteuert wird (Cockrem 2007). Die Folge ist eine Ausschüttung von Katecholaminen, deren mengenabhängige Wirkung sich über eine Erhöhung des Blutdrucks und des Muskeltonus, eine beschleunigte Atmung und einen Anstieg der

Blutglukosekonzentration zeigen kann. Diese Art der „Informationsverarbeitung“ wird auch als „fight or flight“-Antwort beschrieben (Siegel 1980).

Bei umfassenden Literaturrecherchen zum Huhn zeigt sich immer wieder, dass Stressoren und Stressreaktivität im direkten Zusammenhang mit einer gesteigerten endogenen Kortikosterausschüttung stehen (Siegel 1980; Rosales 1994; Creel 2001; Cockrem 2007).

2.3 Zur physiologischen Bedeutung des Hormons Kortikosteron

2.3.1 Kortikosteron beim Vogel

Von den verschiedenen im Blut auftretenden Glukokortikoidformen ist Kortikosteron jenes, das beim Vogel dominiert (Carsia & Harvey 2000). Es wird in den paarig angelegten Nebennieren (Glandulae adrenales), die jeweils am medialen Rand des kranialen Nierenpols liegen, synthetisiert. Anders als beim Säuger strukturiert sich die Nebenniere nicht in einen Mark- und Rindenanteil, sondern in die nebeneinander liegenden Adrenal- und Interrenalzellen. Hierbei bilden die Interrenalzellen das Hormon Kortikosteron. Zusätzlich produzieren und sezernieren sie auch das für den Elektrolythaushalt wichtige Mineralokortikoid Aldosteron (König & Weissengruber 2001).

Kortikosteron gehört zur Familie der Steroidhormone, deren endogene Ausgangssubstanz das Cholesterol darstellt. Als erste Zwischenstufe entsteht aus Cholesterol das Pregnenolon. Ein weiterer Syntheseschritt erfolgt über Progesteron, welches schließlich die Ausgangsbasis für alle Glukokortikoide bildet. Im Falle des Kortikosterons erfolgt nach Bildung des Progesterons, das 11-Desoxykortikosteron, welches dann im letzten Schritt durch das Enzym 11 β -Hydroxylase zu Kortikosteron wird (Carsia & Harvey 2000). Eine umkehrbare Inaktivierung von Kortikosteron erfolgt über die enzymatische Umwandlung der 11 β -Hydroxygruppe in eine Oxogruppe (Möstl 2010).

Die Freisetzung von Kortikosteron erfolgt über die Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse (HPA=hypothalamo-pituitary-adrenal axis). Bei Aktivierung der HPA reguliert CRF (=corticotropin releasing factor) aus dem Hypothalamus den Anstieg von ACTH (=adrenocorticotropic hormone) aus der Adenohypophyse (Hypophysenvorderlappen), welches im Folgenden die Sekretion des Kortikosterons aus der Nebenniere hervorruft. Die Halbwertszeit von Kortikosteron im Blut liegt bei ca. 15 min. Wie beim Säuger wurde auch nachgewiesen, dass Kortikosteron in der HPA-Achse des Vogels auch zu einer negativen Rückkopplung führt und damit die weitere Ausschüttung von CRF und ACTH vorübergehend blockiert wird (Carsia & Harvey 2000).

Der Abbau von Kortikosteron erfolgt in der Leber. Die Ausscheidung der entstandenen Metabolite wird durch die Nieren, aber auch durch die Gallensekretion gewährleistet (Möstl 2010).

2.3.2 Basale Kortikosteronkonzentrationen im peripheren Blut von Hühnern

Da jede Blutentnahme unvermeidlich mit einem spezifischen Handling des betreffenden Huhnes verbunden ist, ist die Darstellung der basalen unbeeinflussten Konzentration an Kortikosteron an gewisse Bedingungen gebunden. Die Blutprobe sollte so zügig und komplikationslos wie möglich gewonnen werden, damit die Aktivierung der HPA-Achse noch keine Auswirkung zeigt. Literaturangaben beschränken die zur Verfügung stehende Zeit auf etwa 3 min (Littin & Cockrem 2001; Dehnhard, Schreer et al. 2003). Allerdings zeigten Untersuchungsergebnisse von Beuving & Vonder (1978), dass Kortikosteron bereits 45 Sekunden nach einer Stresssituation signifikant ansteigt.

In der Literatur zeigen sich hinsichtlich der basalen Kortikosteronkonzentration beim Huhn zwar unterschiedliche Zahlen, allerdings handelt es sich dabei lediglich um feine Differenzen. So kann man zum Beispiel ein Konzentrationsintervall von 4,3-7,2 nmol/l (1,5-2,5 ng/ml) finden (Carsia & Harvey 2000). Ein anderer Autor beschreibt

das initiale Kortikosteronlevel $<7,8$ nmol/l ($<2,7$ ng/ml) (Fraisie & Cockrem 2006). Und auch einem weiteren Experiment ist zu entnehmen, dass sich der Plasmagehalt bei Hühnern im Bereich von $5,8$ nmol/l ($2,0$ ng/ml) bewegt, wohingegen Wildvögel durchaus Konzentrationen im Bereich von bis zu $202,0$ nmol/l ($70,0$ ng/ml) aufweisen können (Littin & Cockrem 2001).

2.3.3 Effekte einer erhöhten Kortikosteronkonzentration

2.3.3.1 Metabolische Effekte

Ein plötzlicher Konzentrationsanstieg von Kortikosteron aufgrund von veränderten umwelt- oder stoffwechselassoziierten Bedingungen ist für den Vogel durchaus essentiell, um in passender Weise auf die jeweilige Situation zu reagieren. Oftmals erfolgt dieser endogen verursachte Anstieg nur kurzzeitig. Geht man jedoch von einer permanenten exogenen (z.B. therapeutischen) Zufuhr an Kortikosteroiden, oder von einer chronischen Ausschüttung bedingt durch Langzeitstressoren aus, so muss damit gerechnet werden, dass sich diese Hyperkortikosteronämie negativ auf die Gesundheit des Vogels auswirkt (Cockrem 2007).

Betrachtet man den Stoffwechsel, so wirkt sich das Vorhandensein eines erhöhten Glukokortikoidspiegels im Blut in erster Linie katabol auf den Proteinstoffwechsel aus. In weiteren Schritten kommt es aber auch zu Veränderungen innerhalb des Kohlenhydrat- und Fettstoffwechsels. Dies bedeutet, dass Körperproteine zugunsten einer anlaufenden Glukoneogenese aus Aminosäuren abgebaut werden. Zusätzlich kommt es zu einer Reduktion der Proteinbiosynthese, was konsequenterweise auch eine verminderte Bildung und Freisetzung von Entzündungsmediatoren bedeutet. Bei längerer exogener Verabreichung oder bei anhaltend endogener Synthese in Form von chronischem Stress kommt es in der Regel zu einer Verminderung der Antikörperproduktion und zur Hemmung der zellulären Abwehr (Möstl 2010). Dass dies im speziellen auch für Vögel und Hühner gilt, lässt sich anhand einer Auflistung von Rosales (1994) ableiten. Eine weitere permissive Wirkung der Glukokortikoide zeigt sich in der Unterstützung der Lipolyse. Außerdem wird die Nahrungsaufnahme

gesteigert (El-lethey, Jungi et al. 2001) und die Magen-Darm-Passage beschleunigt. Trotzdem werden aber infolge der proteinkatabolen Wirkung, Wachstum und Gewichtszunahme durch die Reduktion von Muskelmasse negativ beeinflusst (Carsia & Harvey 2000). Zudem sind Einflüsse des Hormons Kortikosteron auf das Immunsystem, auf die Osmoregulation und auf das Herz-Kreislauf-System zu finden (Silbernagl & Despopoulos 2001).

2.3.3.2 Effekte auf das Verhalten

Auch wenn nicht geklärt ist, auf welchem Weg Glukokortikoide auf das Verhalten Einfluss nehmen, ist dennoch unstrittig, dass es Wirkung erzielt. Beispielsweise können Brut- oder auch Revierverhalten beeinflusst werden (Carsia & Harvey 2000). Außerdem geht man davon aus, dass negative Erfahrungen, kombiniert mit einem Anstieg der Kortikosteronkonzentration, also stressinduzierende Ereignisse, von den Vögeln im Gedächtnis gespeichert werden, um in erneut wiederkehrenden Situationen richtig zu reagieren. Dieses situationsbedingte Lernen und im Gedächtnisbehalten wird dem Kortikosteronanstieg zugeschrieben (Sandi & Rose 1994; Carsia & Harvey 2000).

Zudem unterliegt ebenso Ängstlichkeit hohen Glukokortikoidkonzentrationen (Littin & Cockrem 2001). Wobei aber auch kortikosteronbedingte Veränderungen im Verhalten wie auch im Stoffwechsel dem Vogel die Möglichkeit geben, stressprovozierende Stimuli besser zu verarbeiten (Cockrem 2007).

2.4 Zusammenhang von Stress und der Kortikosteronkonzentration im Blut

2.4.1 Stressinduzierter Anstieg von Kortikosteron

Wie bereits erwähnt, wird die Freisetzung von Kortikosteron über die HPA-Achse geregelt. Die Aktivierung dieser Achse erfolgt unter anderem als Reaktion auf Stress, in erster Linie initiiert durch einen Anstieg von ACTH aus dem Hypophysenvorderlappen. Untersuchungen ergaben, dass CRF, sezerniert aus dem Hypothalamus, für den ACTH-Konzentrationsanstieg verantwortlich ist. Somit erklärt sich auch die Bezeichnung HPA-Achse. Zusätzlich gibt es auch Studien, die belegen, dass neben CRF auch ein Hormon der Neurohypophyse (Hypophysenhinterlappen), das Arginin-Vasotocin (AVT), bei einigen Vogelarten, auch beim Geflügel, einen Anstieg von ACTH fördert (Westerhof, Lumeij et al. 1992; Carsia & Harvey 2000).

Bezüglich des zeitlichen Verlaufs kann man sagen, dass ab dem Beginn des Einflusses eines Stressors der ACTH-Höchstwert nach etwa 5-10 min erreicht wird. Dieser führt im direkten zeitlichen Zusammenhang auch zu einer erhöhten Kortikosteronkonzentration im Blut. Ebenso zeigt bei Hühnern die exogene Zufuhr von ACTH einen dosisabhängigen Konzentrationsanstieg von Kortikosteron nach ca. 5 min (Carsia & Harvey 2000).

2.4.2 Maßnahmen, die als Stressor wirken, weil sie die Kortikosteronkonzentration im Blutplasma erhöhen

In den vergangenen Jahrzehnten fanden zahlreiche Experimente statt, die Aufschluss darüber geben sollten, ob und inwieweit verschiedene Maßnahmen zu Stressreaktionen und damit auch zu einem messbaren Anstieg von Glukokortikoiden im Blut führten. Dieses breitgefächerte Themengebiet lässt sich etwas eingrenzen, wenn man die Studien nach sinnvollen, hier nutzbaren Kriterien sichtet und folglich die Klasse der Mammalia von der Klasse der Aves differenziert.

Literatur

Literaturrecherchen ergaben, dass es bei Vögeln bereits umfangreiche Untersuchungen gibt. Da bei allen Vögeln das Hormon Kortikosteron vorherrscht, spielt es weniger eine Rolle, um welche Vogelart es sich dabei handelt. Allerdings zeigten Messungen, dass Wildvögel zum Teil weitaus höhere basale Kortikosteronkonzentrationen im Blut aufweisen, als domestizierte Vögel. Zudem kann man beobachten, dass beispielsweise bei Hühnern und Wachteln ein im Blut induzierter Kortikosteronpeak bereits nach ca. 15-30 min wieder abflacht, wohingegen Wildvögel mehr als 60 min benötigen, um zu einem basalen Level zurückzukehren (Littin & Cockrem 2001).

So beschreiben Cockrem und Silverin (2001) das Einfangen und das zur Blutentnahme nötige Handling eines Vogels als Vorgänge, die oftmals benutzt werden, um eine vermehrte Ausschüttung von Kortikosteron zu erzielen. In Untersuchungen von Wingfield (1992) wird dies eingehend dargestellt. Hier konnte nachgewiesen werden, dass das Einfangen von Wildvögeln durchaus als Stressor geltend gemacht werden kann.

Neben dem Einfangen und dem Handling, hat aber auch der Transport von Hühnern eine Erhöhung von Glukokortikoiden zur Folge (Knowles & Broom 1990). Ebenso Futter- und Trinkwasserentzug über einen gewissen Zeitraum bewirken einen Anstieg von Kortikosteron (Freeman, Manning et al. 1983). Eine Studie, in der Tauben einerseits Hitze und andererseits auch Kälte ausgesetzt sind, belegt diese Maßnahme als Stressor, da die Kortikosteronkonzentration im Blutplasma signifikant anstieg (Pilo, John et al. 1985).

Beuving & Vonder (1978) gaben an, dass bei Legehennen das Handling zur körperlichen Immobilisierung weitaus deutlichere Stressreaktionen als Durst, Hunger oder Hitze erzeugen. Es kamen hierbei verschiedene Handling-Situationen zum Tragen, die sich vor allem bezüglich ihrer Dauer unterschieden. Bei allen Formen der Immobilisierung per Hand, mit einer Dauer von entweder 5 min, 7,5 min oder 1 Stunde, zeigte sich ein zunehmender signifikanter Anstieg von Kortikosteron. Nach 7,5 min erreichte der Kortikosteronspiegel im Blut bei einigen Tieren mehr als 57,7 nmol/l (>20,0 ng/ml). Der Versuch, die Tiere durch wiederholtes Handling zur körperlichen Immobilisierung an fünf aufeinanderfolgenden Tagen an den Stressor

zu gewöhnen, brachte keinen Erfolg. Auch hier stieg nach jedem weiteren Handling der Kortikosterongehalt im Blut an.

In einem weiteren Versuch wurde gezeigt, dass bei Legehennen Isolation sowie wiederholtes Handling über 15 min im Abstand von je 2 min (Entnahme aus dem Käfig, Überkopfhaltung und erneutes Verbringen in den Käfig) eine Stressreaktion auslöste. Der durchschnittliche Konzentrationsanstieg von Kortikosteron erreichte während der ersten 15 min ausgehend von durchschnittlich 1,1-17,4 nmol/l schließlich 3,2-56,7 nmol/l (Littin & Cockrem 2001).

Neben den verschiedenen Handling- und Fixationsmethoden wurde auch versucht, die Hühner durch sanften Druck in eine Art Starre zu versetzen (tonische Starre). Dabei befanden sich die Tiere in Seitenlage auf einem Tisch, wobei anfangs eine Hand einen leichten Druck auf das Tier ausübte und die zweite Hand den Kopf des Tieres bedeckte. Nach 15 Sekunden wurden die Hände weggenommen und das Tier sollte in dieser Starre verharren. In diesem Fall erfolgte jedoch keine Messung des Kortikosterongehaltes. Anstatt dessen wurde dokumentiert, wie lange die Hennen in dieser Position verweilten, wie viele erneute Fixationen nötig waren, wenn sich die Henne innerhalb von 15 Sekunden aus dieser Position löste, und wann zum ersten Mal, bzw. wie oft der Kopf Bewegungen ausführte (Gallup, Ledbetter et al. 1976; Albentosa, Kjaer et al. 2003; Fraisse & Cockrem 2006). Man geht davon aus, dass diese durch leichten Zwang provozierte Reaktion, auf das Instinktverhalten eines Beutetieres zurückzuführen ist. Denn fühlt sich das Tier in der Natur durch einen Beutegreifer bedroht, so kann man ebenfalls Starre und eventuell auch das Schließen der Augen beobachten (Cockrem 2007). Aus den Untersuchungen geht hervor, dass die Dauer des Verharrens in der ursprünglich erzwungenen Situation proportional zur Intensität der Angst verläuft (Albentosa, Kjaer et al. 2003; Cockrem 2007). Im Umkehrschluss kann also auch gefolgert werden, dass diese Situation von einem Konzentrationsanstieg an Plasmakortikosteron begleitet wird.

Hühner zu immobilisieren, indem man sich dem Verhaltensrepertoire eines Beutetieres bedient ist eine Möglichkeit. Eine andere Option besteht darin, die Hühnervögel durch körperliche Zwangsmaßnahmen, die ein Fortbewegen nicht mehr möglich machen, zu fixieren. Zu erwähnen ist hier in erster Linie das Verschränken

beider Flügel in der *Articulatio carpometacarpea* über dem Rücken. Es bewirkt eine körperliche Ruhigstellung und ist beispielsweise beim Einsammeln mehrerer Tiere aus einer Herde dienlich (König & Liebich 2001).

2.5 Die Blutglukosekonzentration als Stressparameter

Insbesondere ist das zentrale Nervensystem auf die energetische Versorgung mit Glukose angewiesen. Aber auch der Energiebedarf der Erythrozyten wird über die Glykolyse gedeckt. Da jedoch die genannten Gewebe über kein Glukosereservoir verfügen, ist es essentiell, auf die im Blutplasma gelöste Glukose zurückzugreifen. Aufgrund einer speziellen enzymatischen Ausstattung der Leber kann überschüssige Glukose z.B. nach der Nahrungsaufnahme in Form von Glykogen gespeichert und bei Bedarf auch wieder mobilisiert und freigesetzt werden. Der Gehalt an Glukose im Blutplasma ist in erster Linie durch Verbrauch und Neubildung bestimmt. Beides sind komplexe Vorgänge die adäquat im Sinne eines Gleichgewichts, der Homöostase, reguliert sein müssen. Diese Regulierung erfolgt hauptsächlich auf hormoneller Ebene. Ist die Blutglukosekonzentration zu hoch, so wird über die B-Zellen im Pankreas das Hormon Insulin sezerniert. Dieses anabol wirkende Peptidhormon beschleunigt zunächst die zelluläre Glukoseaufnahme, insbesondere in Muskulatur und Fettgeweben durch eine Stimulation des Glukosetransportmoleküls GLUT 4, aber auch in der Leber durch Aktivierung der intrazellulären Glukosephosphorylierung mittels des Enzyms Glukokinase. Darüber hinaus sorgt Insulin mittels der Aktivierung der Glykogensynthetase für die Umwandlung von Glukose zu Glykogen (Glykogenese), andererseits hemmt es die Glukoneogenese. Im Lipidstoffwechsel wirkt Insulin, indem es die Lipolyse hemmt und die Lipogenese fördert. Ein ähnlich anaboler Einfluss ist auch im Proteinstoffwechsel zu beobachten. Im Falle einer Hypoglykämie, wird aus den A-Zellen des Pankreas Glukagon freigesetzt. Dieses Hormon, antagonistisch zum Insulin wirksam, initiiert in der Leber den Abbau von Glykogen zu Glukose (Glykogenolyse). Der Plasmaspiegel an Glukose steigt. Gleichzeitig wird aber auch der Mechanismus der Neubildung von Glukose (Glukoneogenese) aus entsprechenden Vorstufen durch Glukagon eingeleitet.

Neben diesen antagonistisch wirkenden pankreatischen Hormonen, Glukagon und Insulin, zeigt auch das Nebennierenhormon Kortikosteron Einfluss auf die Blutglukosekonzentration. So ist der Blutplasmaanstieg von Kortikosteron in der Regel auch mit einem Anstieg der Blutglukosekonzentration verbunden. Wegen seiner proteinkatabolen Wirkung sorgt Kortikosteron für eine glukoneogenetische Anhebung der Blutglukosekonzentration durch entsprechende Verwertung der freigesetzten glukoplastischen Aminosäuren (Silbernagl & Despopoulos 2001; Möstl 2010). Andererseits erhöht sich der Blutglukosespiegel auch infolge einer durch Glukokortikoide gesteigerten Glykogenolyse (Carsia & Harvey 2000).

Bei Säugetieren ergaben umfangreiche Untersuchungen, dass Glukokortikoide und Insulin am Blutglukosespiegel antagonistisch in Aktion treten. Während Insulin den Blutglukosespiegel senkt und den Appetit zügelt, erhöht Kortisol das Blutglukoseniveau und steigert den Appetit. Dennoch lässt sich noch keine direkte Aussage dahingehend treffen, dass diese antagonistische endokrine Situation auch auf den Vogel zutrifft (Ramage-Healey & Romero 2001).

Das Level der basalen Glukosekonzentration im Blutplasma von Hühnern bewegt sich im Bereich von 7,0-14,0 mmol/l (Hummel 2000). Etwas genauere Angaben sind aus vereinzelten Studien mit Hühnern zu erhalten. Hier finden sich mittlere Glukosekonzentrationen im Blutplasma von ca. 12,0-13,3 mmol/l (Knowles & Broom 1990; Bedanova, Voslarova et al. 2007).

Dass sich beim Huhn mittels eines Stressors neben dem Anstieg von Kortikosteron auch die Konzentration der Blutglukose erhöht, wurde in verschiedenen Untersuchungen durch Zahlen belegt. So führt beispielsweise Handling und Transportstress zu signifikant erhöhten Werten (12,0 mmol/l bei den Kontrolltieren im Gegensatz zu 13,1 mmol/l bei den Versuchstieren) (Knowles & Broom 1990). In einem anderen Experiment fanden eingehende Untersuchungen darüber statt, wie stark Hühner beim über Kopf aufhängen für den automatisierten Schlachtvorgang, gestresst werden. Hier war zu sehen, dass die Versuchstiere im Vergleich zu den Kontrolltieren bei einer Überkopfhaltung von mehr als 60 Sekunden signifikant höhere Glukosewerte aufwiesen (13,3 mmol/l bei Kontrolltieren und bis zu 14,9 mmol/l bei den Versuchstieren). Auffällig war ebenso, dass die Konzentration an

Glukose und Kortikosteron anstieg, je länger die Tiere in der Kopfüber-Position verharren mussten (Bedanova, Voslarova et al. 2007). Eine infusionsbedingte systemische Verabreichung von Kortikosteron über sieben Tage führte ebenfalls zu einem signifikanten Anstieg der Plasmaglukose auf ca. 14,0 mmol/l (Liu, Song et al. 2012).

2.6 Die Blutharnsäurekonzentration als Stressparameter

Beim Säuger steht am Ende des Abbaus von Proteinen bzw. Aminosäuren hauptsächlich der ausscheidungsfähige Harnstoff als Stickstoffträger. Endprodukt des Proteinabbaus beim Vogel ist jedoch die Harnsäure. Für beide Situationen gilt, dass der in Proteinen und Aminosäuren enthaltene Stickstoff, der nicht erneut als Baustein Verwendung findet, in unschädlich löslicher Form ausgeschieden werden muss (Fromm & Gäbel 2010). Die Synthese von Harnsäure findet in der Leber und den Nieren statt (Hummel 2000). Aufgrund dieses Entstehungsprozesses von Harnsäure lässt sich im Zusammenhang mit Stress und einer erhöhten Kortikosteronkonzentration erwarten, dass Proteine abgebaut werden (Möstl 2010) und freie Aminosäuren für die Glukoneogenese oder auch für die Energiebereitstellung abgebaut werden (Hummel 2000). Stress mit einem vermehrten Proteinabbau könnte also auch einen gesteigerten Harnsäurespiegel im Blut zur Folge haben (Liu, Song et al. 2012).

Die basale Konzentration der Harnsäure bewegt sich beim Huhn etwa im Bereich von 200,0-238,0 $\mu\text{mol/l}$ (Nijdam, Delezie et al. 2005; Voslarova, Chloupek et al. 2011).

Die Versuche von Liu (2012) an Legehennen beinhalteten unter anderem auch die Messung der Blutharnsäurekonzentration nach Abschluss einer 7-tägigen exogenen Kortikosteronzufuhr. Hierbei war festzuhalten, dass der Harnsäuregehalt bei der kortikosteronbehandelten Gruppe signifikant (um ca. 100 %) höher lag, als der Wert, der innerhalb der Kontrollgruppe ermittelt werden konnte (Liu, Song et al. 2012). Darüber hinaus zeigt auch die Untersuchung von Voslarova (2011), dass von stressbeeinflusste Hühner innerhalb von wenigen Minuten eine signifikant

ansteigende Harnsäurekonzentration aufwiesen. Wobei die höchsten Werte (ca. 400,0 $\mu\text{mol/l}$) nach dem Einfangen und einem angeschlossenen 9-minütigem Handling (welches einem Handling gleichzusetzen ist, das sich in Vorbereitung auf den Schlachttiertransport ereignet), bzw. 15 min nach dem Einfangen und Einsperren in einer Kiste (ca. 500,0 $\mu\text{mol/l}$) gemessen werden konnten.

2.7 Die Konzentration der Freien Fettsäuren im Blut als Stressparameter

Kortikosteron wirkt auf das Fettgewebe indem es die Lipolyse durch andere Hormone begünstigt. Dadurch kommt es im Blut zu einem Anstieg der unveresterten (NEFA) bzw. Freien Fettsäuren (FFS). Diese Freien Fettsäuren können, wie auch die aus Proteinen freigesetzten Aminosäuren, einer im Stress daraus anlaufenden Energiegewinnung dienen. Bei Ratten führte Stress zu einer Senkung des Triacylglycerinspiegels im Blut. Beim Geflügel bewirkte zugeführtes ACTH über den dadurch induzierten Anstieg von Kortikosteron eine Zunahme der Freien Fettsäuren im Blut (Remage-Healey & Romero 2001). Auch bei Wachteln zeigte die einmalige exogene Zufuhr von ACTH einen signifikanten Anstieg von Freien Fettsäuren im Blut. Eine an Wachteln durchgeführte 5-tägige Verabreichung von Dexamethason, einem langwirkenden Glukokortikoid, erhöhte die Freien Fettsäuren im Plasma, während eine 7-tägige Gabe von ACTH oder Kortikosteron allerdings keinen Anstieg der Freien Fettsäuren im Blut bewirkte (Bray 1993).

In einer Studie, die den Transportstress bei Broilern im Fokus hatte, zeigten gefastete aber auch transportierte Broiler signifikant höhere NEFA-Konzentrationen ($>0,6 \text{ mmol/l}$), als Broiler, die Futter zur Verfügung hatten und nicht transportiert wurden (Nijdam, Delezie et al. 2005). Die sogenannte basale Konzentration für NEFA lag in dieser Untersuchungsreihe im Bereich von 0,3-0,6 mmol/l.

Ganz anders verliefen die Beobachtungen einer weiteren Untersuchung. Nach einer Kortikosteronapplikation über 7 Tage, zeigte sich bei den Experimenten von Liu

(2012), dass der Gehalt an Freien Fettsäuren im Blut bei der Versuchsgruppe signifikant abnahm (von ca. 1,8 mmol/l auf 1,5 mmol/l).

2.8 Die Körperkerntemperatur als Stressparameter

Vergleichend mit den Säugetieren lassen sich bei Vögeln in der Regel höhere Körpertemperaturen nachweisen. Literaturangaben zufolge liegt beim Huhn die Normaltemperatur im Bereich von 41,5 °C (Dawson & Whittow 2000). Nach Steinlechner (2010) gilt für die Normaltemperatur beim Huhn eine breitere Spanne, die sich zwischen 40,0 und 42,0 °C darstellt.

Die Messtechniken beim Huhn reichen von der kloakalen Ermittlung der Temperatur mithilfe eines handelsüblichen Fieberthermometers, über Temperatursonden für kloakale bzw. rektale Messungen (Mitchell & Kettlewell 1998) bis hin zu telemetrischen Verfahren, bei denen Sonden im Bereich der Sternumspitze implantiert werden, um die Temperatur ohne Handling des Vogels, oder auch einen genauen Temperaturverlauf über einige Stunden zu erhalten (Kadono, Besch et al. 1981; Dawson & Whittow 2000).

Die oben genannte Spanne der physiologischen Körpertemperatur zwischen 40,0 und 42,0 °C ergibt sich aus der Abhängigkeit von einigen Einflussfaktoren. So wird sie beispielsweise mitbestimmt durch zirkadiane Rhythmen, durch die Außentemperatur und auch durch den Status der Futteraufnahme. Ferner ist davon auszugehen, dass auch Umweltbedingungen (wie z.B. Sommer und Winter) oder im Labor geltende Bedingungen die Körpertemperatur beeinflussen (Dawson & Whittow 2000). Bei Legehennen konnte unter anderem auch nachgewiesen werden, dass die Körpertemperatur mit der Eiablage korreliert, welche einen peakartigen oder im Mindesten einen steilen Anstieg der Körpertemperatur um 0,6-1,0 °C hervorruft (Kadono, Besch et al. 1981).

Man ist zudem der Auffassung, dass die o.g. induzierte Regelung der Körpertemperatur eine stressreaktive Maßnahme ist, um eine gegebene Situation so

gut wie möglich zu durchlaufen (Dawson & Whittow 2000). Demnach ist es nachvollziehbar, dass Experimente, die der Austestung von Stressoren gelten, auch die Entwicklung der Körpertemperatur als Indikator verwenden. So beinhaltet die Untersuchung von Rosales (1994) in den aufgelisteten Reaktionen auf Stress unter anderem auch die Erhöhung der Körpertemperatur.

In der Literatur findet man Aufzeichnungen über den Verlauf der Körpertemperatur meist im Zusammenhang mit Hitze- oder Kältestress. Eine Studie befasste sich mit dem Einfluss von Hitze auf die Physiologie und das Wachstum zwischen dem 16. und 18. Bruttag und den ersten Aufzuchttagen (Tona, Onagbesan et al. 2008). Gerade die Beurteilung von Hitzestress ist für das Geflügel wichtig, denn bei Lebeltiertransporten zu den Schlachtbetrieben kann die Umgebungstemperatur in den dicht bestückten Transportpanels vor allem im Sommer oft lebensbedrohliche Höchstwerte erreichen. Deshalb führt auch die Erfassung der Körpertemperatur und die Analyse verschiedener Blutparameter zu wichtigen Rückschlüssen hinsichtlich der Stressbelastung bei Tiertransporten (Mitchell & Kettlewell 1998).

Weiter wird beschrieben, wie sich Fasten und gleichzeitiger Hitzestress auf die Körpertemperatur und verschiedene Blutparameter von Küken im Alter von 5-6 Wochen auswirkt. Es konnte festgehalten werden, dass Fasten bis zu 72 Stunden die Körpertemperatur im Mittel von 41,4 auf 40,7 °C senkt. Bei kontinuierlicher Steigerung der Raumtemperatur auf 41,0 °C zeigten Küken, die bis zu 72 Stunden hungerten das langsamere Erreichen einer kritischen Körpertemperatur von 44,5-45,0 °C, als Küken, die nicht gehungert wurden (Ait-Boulahsen, Garlich et al. 1989).

Eine Studie, die sich mit Veränderungen der Körpertemperatur, der Eiablage und der Futteraufnahme unter Dauerlicht befasste, kam zu folgenden Ergebnissen: Bei einem Lichtregime 14:10 (Licht:Dunkel) scheint die Körpertemperatur während der Lichtperiode zu steigen und während der Dunkelperiode zu sinken ($\pm 1,2-1,5$ °C). Die Futteraufnahme beschränkte sich auf die Lichtperiode. Bei der 10-tägigen Haltung unter Dauerlicht (24:0) konnte beobachtet werden, dass die Körpertemperatur und auch die Eiablage weiterhin einem zirkadianen Rhythmus folgten, der sich in etwa bei 25,2 Stunden einpendelte. Die Futteraufnahme war in dieser Haltungsbedingung parallel zum Verlauf der Temperatur. Dies bedeutet, mit einem Anstieg der

Körpertemperatur war auch eine Zunahme der Futteraufnahme, mit dem Abfall der Körpertemperatur ein Stop der Futteraufnahme verbunden. Unter Einbeziehung oben zitierter Ergebnisse lässt sich erkennen, dass es bei der Körpertemperatur der Legehennen im Verlauf eines Tages drei verschiedene Temperaturniveaus gibt. Zwischen 23:00 und 6:00 Uhr liegt die Körpertemperatur im unteren Bereich, von 6:00 bis 12:00 Uhr steigt der Durchschnitt, der hier auch den Peak der Eiablage beinhaltet etwas an und von 12:00 bis 23:00 Uhr erreicht die Körpertemperatur die höchsten Werte (Kadono, Besch et al. 1981).

2.9 Unterschiede in physiologischen Merkmalen von Hybridlegelinien

Von Tierhaltern und Tiermedizinerinnen ist bekannt, dass sie subjektive Meinungen bezüglich unterschiedlicher physiologischer Abläufe und Verhaltensweisen bei verschiedenen Hybridlinien vertreten. Aber auch in der Literatur lassen sich Untersuchungen finden, die solche Differenzen durchaus objektiv belegen (s.u.).

Diese Studien befassen sich zumeist mit der Analyse von Unterschieden bezogen auf die Ausprägung der tonischen Starre infolge einer manuell eingeleiteten Fixation. Gallup (1976) verglich vier verschiedene Legelinien, unter anderem auch die White Leghorn Linie. Hierbei konnte aufgezeigt werden, dass diese Linie mit durchschnittlich 1071 Sekunden signifikant längere Zeit in der tonischen Starre verharrte, als die restlichen drei Legelinien mit durchschnittlich 339-518 Sekunden. Gallup (1976) schlussfolgerte, dass die Reaktion auf tonische Starre einerseits von genetischen Faktoren abhängen muss. Andererseits scheinen sich darüber hinaus auch die unterschiedliche Emotionalität und das Angstverhalten der verschiedenen Legelinien auszuwirken. In einer Zusammenfassung von vorangegangenen Untersuchungen (Gallup 1974) ist deutlich geworden, dass das Gefühl der Angst auf die tonische Starre unmittelbar Einfluss nimmt. So konnte beobachtet werden, dass verängstigende Maßnahmen die Dauer der tonischen Starre verlängerten, wohingegen Situationen, die zu einer Milderung der Angst beitrugen auch die Zeit der tonischen Starre verkürzten. Hennen, die länger in dieser Starre verharrten

zeigten sich insgesamt scheuer und weniger aggressiv, als Hennen, die schon nach kurzer Zeit wieder aufstanden. Gleichzeitig zu den Versuchen der tonischen Starre brachten auch Versuche unter Anwendung eines einfachen Labyrinths Ergebnisse, die weitere durchschnittliche Defizite der White Leghorn Linie gegenüber den anderen Legelinien (Gallup, Ledbetter et al. 1976) andeuten.

Ein zusätzliches, ausführliches Experiment verglich die beiden Linien White Leghorn und Brown Hyline. Es thematisierte einerseits den initialen Kortikosteronspiegel im Blutplasma sowie dessen Verlauf in Abhängigkeit von Handling, andererseits Reaktionen auf tonische Starre und auf das Heranführen unbekannter Objekte. Während die Messung der basalen Kortikosteronkonzentration im Blut zwischen weißer und brauner Legelinie keine Unterschiede aufzeigte, brachte doch die Bestimmung des Gehalts an Kortikosteron nach dem Handling gewisse Differenzen hervor. Nach 15 min stiegen bei beiden Legelinien die Kortikosteronwerte an, jedoch zeigte die White Leghorn Linie deutlich höhere Werte (ca. 12 ng/ml) als die braune Legelinie (ca. 8,0 ng/ml). Weitere 15 min später konnte bereits wieder ein Konzentrationsabfall beobachtet werden, wobei dieser bei der braunen Linie deutlicher ausgeprägt war. Nach einer zusätzlichen Viertelstunde, dies entspricht einem Beobachtungszeitraum von insgesamt 60 min, blieb die Kortikosteronkonzentration der White Leghorn Gruppe konstant, wohingegen die braunen Hennen einen leichten Anstieg erfuhren. Auch bei der Erfassung von Parametern, die sich auf die tonische Starre bezogen, zeigte sich, dass die White Leghorn Linie der Brown Hyline in allen Belangen nachstand (s. Tab. 2.1). Beurteilt wurden einerseits die Minuten wie lange die Henne in dieser Position verharrte, die Anzahl der Befreiungen, beziehungsweise das erneute Fixieren, die Latenzzeit bis zu einer ersten Kopfbewegung und auch die Anzahl der Kopfbewegungen innerhalb der ausgeführten Starre.

Tab. 2.1: Hybridlinienspezifische Ergebnisse zur tonischen Starre
(nach Fraise F. & Cockrem J. F., 2006)

	White Leghorn	Brown Hyline	p
Dauer der Starre [min]	6,61	0,71	<0,001
Latenzzeit [min]	3,61	0,49	<0,001
Anzahl erneuter Fixationen	1,64	3,69	<0,001
Anzahl der Kopfbewegungen	5,17	1,75	0,002

Keine Unterschiede zwischen den Linien ergab das Heranführen an ein unbekanntes Objekt (Fraise & Cockrem 2006). Aber auch Albentosa (2003) konnte in seinen Studien belegen, dass die White Leghorn Linie im Vergleich zu anderen Linien länger in der tonischen Starre verharrte.

Geht man davon aus, dass die Dauer der tonischen Starre direkt an das Empfinden von Angst gekoppelt ist, dann müsste somit die White Leghorn Linie auf Stressoren deutlich sensibler und in einem breiteren Umfang reagieren als andere Legelinien. Dass dadurch sowohl das Verhalten, als auch bestimmte physiologische Merkmale (z.B. das Konzentrationsverhalten von Blutparametern) beeinflusst werden, ist naheliegend und verständlich (Fraise & Cockrem 2006).

2.10 Kognition, Verhalten, Stress und Kortikosteron

In dieser Studie werden das Verhalten und der Lernerfolg von Hennen mithilfe eines Y-Labyrinthes beurteilt. Lernen als auch weitere Vorgänge, die mit Wahrnehmung, Denken oder Erinnern (Gedächtnis) einhergehen, sind dem Überbegriff „Kognition“ unterzuordnen. Dies bedeutet wiederum, dass bestimmte Areale des Gehirns für diese mentalen Prozesse verantwortlich sind (Brockhaus-Enzyklopädie 1998).

So findet man auch beim Vogel im Bereich des Vorderhirns (Prosencephalon), das sich aus End- und Zwischenhirn (Tel- und Diencephalon) zusammensetzt, den Hippocampus und den Hypothalamus (König, Misek et al. 2001). Noch genauer beschreibt Sandi (1994) die Anteile des Endhirns, zu dem das IMHV (intermediate

medial hyperstriatum ventrale), der Lobus parolfactorius und der Hippocampus gehören. Diese Anteile gehören zum limbischen System, welches dem Hypothalamus übergeordnet ist. Während der Hypothalamus, neben der Steuerung von vegetativen und endokrinen Abläufen, auch für die geistige Entwicklung verantwortlich ist, spielt das limbische System eine spezifische Rolle beim angeborenen und erworbenen Verhalten, sowie beim Ausdruck von Emotion, Motivation und von Trieben (Silbernagl & Despopoulos 2001). Strukturen des limbischen Systems, die der Gedächtnisleistung zu Grunde liegen, und der Ablauf eines solchen Prozesses sind bei beiden Wirbeltierklassen nahezu identisch (Hutchinson, Summers et al. 2008). Es gilt unter anderem als erwiesen, dass beide Gehirnregionen, Hippocampus und IMHV, bei der Gedächtnisausbildung von Küken beteiligt sind und dieses Gewebe auch eine hohe Dichte an Kortikosteronrezeptoren aufweist (Sandi & Rose 1994).

Dass der Hippocampus bei kognitiver Leistung und beim Gedächtnisvermögen von essentieller Bedeutung ist, zeigen die Experimente von Krause (2008). Eine intra-hippocampal-injezierte Blockierung der Rezeptoren führte zu einem verminderten Leistungspotenzial.

Überraschend ist, dass in zahlreichen Studien, die sich mit Lern- und Gedächtnisleistung befassen, auch Hühner als Versuchsobjekte herangezogen werden. Meist werden Jungtiere, oftmals sogar frisch geschlüpfte Küken verwendet, da sich in diesem Stadium der körperlichen Entwicklung die Testmethoden deutlich vereinfachen. Die jeweiligen Versuche profitieren von dem angeborenen sehr speziesspezifischen Verhaltensrepertoire geschlüpfter Küken (Rose 2000). So besitzen Nestflüchter ein komplett entwickeltes zentrales Nervensystem, welches als die Grundvoraussetzung für die Prägung, die Entwicklung kognitiver Fähigkeiten und für die Formierung von Gedächtnis gilt. Obendrein bringt das noch vorhandene Urvertrauen weitere Vorteile, da frisch geschlüpfte Küken noch keine negativen Erfahrungen abspeichern konnten (Hutchinson, Summers et al. 2008). Eine gewisse Ausgangsbasis für Verhaltensversuche beim Huhn bieten die bereits etablierten Testverfahren, die erweitert werden können (s.u.).

Ein recht einfacher Testablauf beruht auf dem Prinzip des passiven Vermeidungslernens. Hierzu gehört beispielsweise, dass Küken mit zwei unterschiedlich gefärbten Perlen konfrontiert werden, wobei eine Perle mit einer geschmacklich abstoßenden Substanz präpariert ist. Durch Erkundungspicken lernen die Küken rasch, welche Perle nicht bepickt werden sollte um unangenehme geschmackliche Konsequenzen zu vermeiden (Sandi & Rose 1994; Hutchinson, Summers et al. 2008). Allerdings ist diese Methode bei Küken, die älter als drei Tage sind nicht mehr durchführbar, da das spontane Bepicken solcher Perlen nach dieser Zeit stagniert (Atkinson, Bevilacqua et al. 2003). Überdies kann ein Verhaltenstest erfolgen, indem man ein Küken von seinen Artgenossen räumlich trennt, ihm aber die Gelegenheit gibt, über das Hörvermögen und ein Ganglabyrinth zu seinen Artgenossen zurückzufinden. Zu erwähnen bleibt auch noch ein Experiment, bei welchem den Küken ermöglicht wird ein neutrales Objekt zu bepicken. Sofort im Anschluss daran erfolgt eine intraperitoneale Injektion von Lithiumchlorid, um bei den Versuchstieren Übelkeit hervorzurufen. Die Tiere werden mit dieser verbundenen Erfahrung dieses Objekt künftig meiden. Das heißt, auch hier handelt es sich um ein passives Vermeidungslernen (Rose 2000).

Letztlich basieren derartige Tests im Wesentlichen auf der Fähigkeit, Unterschiede visuell zu erkennen. Man kann dieses Erfassen von Differenzen auch auf andere Objekte, Artgenossen oder Menschen ausdehnen. In all diesen Bereichen konnte nachvollzogen werden, dass Hühner dieser Aufgabe gerecht werden (Croney, Prince-Kelly et al. 2007).

Nachdem Atkinson (2003) beschreibt, dass das passive Vermeidungslernen ausschließlich bei Küken, die weniger als drei Tage alt sind anwendbar ist, nennt er eine weitere Methode, die es ermöglicht auch ältere Tiere auf kognitive Leistung zu testen. Diese Methode basiert auf dem Prinzip der Belohnung. Die Versuchsanordnung besteht darin, mit Kieselsteinen vermischtes Futter in einem bestimmten räumlichen Bereich zu streuen, sodass die Tiere die nicht essbare Substanz von der Nahrung unterscheiden müssen. Dieses Experiment lässt sich noch weiter ausbauen, indem man den einen Anteil der essbaren Pellets anders färbt und mit einem abstoßendem Geschmack präpariert. In diesem Fall müssen die

Hühner eine weitere Differenzierung vornehmen, um die Aufnahme der ungenießbaren Pellets zu vermeiden.

Komplexere Aufgaben, die ebenfalls über den Erhalt von Belohnung funktionieren und der Erfassung hippocampaler Leistungen dienen, finden sich in der Anwendung von Ganglabyrinthen. Der Schwierigkeitsgrad kann je nach Aufgabenstellung, aber auch nach Größe des Labyrinths (2-8 Arme) deutlich variiert werden (Lipp, Pleskacheva et al. 2001; Krause, Naguib et al. 2006). Verschiedene Studien mit Vögeln (Tauben und Sperlingen) kamen zu dem Ergebnis, dass bei der Anwendung eines Labyrinths auf die spezifischen Bedürfnisse der Tierart eingegangen werden muss. So variiert zu einem Teil die Bauweise des Labyrinths, zum anderen auch die Intensität des Trainings vor dem Test. Dennoch versuchte Lipp (2001) in seinen Experimenten ein Labyrinth zu etablieren, bei dem die Lernerfolge verschiedener Spezies (Ratten, Hasen, Meerschweinchen, Hühner und Krähen u.v.m.) direkt miteinander verglichen werden konnten. Der Lernerfolg selbst sollte mithilfe der win-shift-Strategie beurteilt werden. Die Anwendung von win-shift in einem Labyrinth sieht vor, dass die Tiere nach der Begehung eines Labyrintharmes und dem Auffinden einer dort positionierten Belohnung, im nächsten Schritt einen anderen Labyrintharm aufsuchen müssen, um erneut belohnt zu werden. Um auf diese Weise die verschiedenen Tierarten miteinander zu vergleichen, musste Lipp die allgemeine Handhabung, die Messparameter und auch die Auswertung für alle Tiergruppen identisch halten. Über die Anzahl der korrekt richtigen Labyrinthläufe und die Summe der vollzogenen Fehler konnte schließlich über verschiedene Tierarten hinweg ein physiologischer Vergleich vorgenommen werden. Einzig und allein die Versuchsvorbereitung musste den unterschiedlichen Gegebenheiten der jeweiligen Tierart angepasst werden. Nachdem die kognitive Leistung der Hühner als gering eingestuft wird (s.u.), gestaltete sich das Training aufwändiger. Das Futter wurde während der Eingewöhnungszeit bereits in jenen Näpfen angeboten, welche anschließend auch im Labyrinth verwendet wurden. Zur weiteren Gewöhnung kamen die Hennen nach 24 Stunden Futterentzug zuerst gemeinsam in das mit Belohnung versehene Labyrinth, um dann im Verlauf von 15 Sitzungen einzeln trainiert zu werden. Nichts desto trotz erzielten die Hennen, z.B. im Vergleich zu Hasen und Krähen, im Labyrinth sehr viel schlechtere Ergebnisse und der Lernerfolg stellte sich als nicht signifikant heraus. Aber die durchgeführte win-shift-Strategie zeigte bei der

Ratte schnell Erfolge. Das heißt, man kann davon ausgehen, dass die Tiere dieses Prinzip in Folge eines aktiven Hippocampus verstehen. Es ist anzunehmen, dass sich die Ratten in erster Linie an Hinweisen orientieren, die außerhalb des Labyrinths zu finden sind. In Dunkelheit erfolgt die Orientierung eher über den Geruch.

Aufgrund der Ergebnisse von Lipp (2001) zeigt sich die Anwendung eines sternförmigen Labyrinths nicht nur bei diversen Säugetierspezies, sondern auch beim Vogel als erfolgreich .

Krause (2006) machte in seinen Studien von einem 2-armigen (Y-) Labyrinth Gebrauch. Eine derartige Versuchsanordnung, die ebenfalls auf der Basis einer Futterbelohnung beruhte, bietet gute Möglichkeiten, kognitive Leistungen und das Erkundungsverhalten, welches durchaus von Ängstlichkeit negativ beeinflusst sein könnte, einzuordnen. Schwerpunkt dieser Studie war allerdings nicht der Einfluss von Stress oder der inter-spezies Vergleich, sondern mögliche Effekte einer kurzzeitigen Freilandhaltung gegenüber ausschließlicher Stallhaltung. In der Auswertung des Experimentes wird die Latenzzeit bis zum Verlassen der Startbox, der Lernerfolg und die von den Küken verursachten Fehler im Labyrinth genutzt. Zusätzlich folgte unter anderem nach 24 Stunden eine Überprüfung der Gedächtnisleistung beider haltungsunterschiedlicher Gruppen. Im Ergebnis zeigte sich, dass die Tiere mit zugestandenem Freilauf ein besseres Erkundungsverhalten aufwiesen und folglich auch die Tests im Y-Labyrinth signifikant erfolgreicher durchliefen. Seitens der Gedächtnisleistung war jedoch kein Unterschied zu beobachten.

Neben stark divergierenden Tierhaltungssystemen, gibt es noch weitere Faktoren, die sich auf den Lern- und Gedächtnisprozess auswirken können. So kamen Wissenschaftler beispielsweise zu der Feststellung, dass auch Stress und der dadurch resultierende Kortikosteronanstieg im Blut an der Ausbildung von kognitiver Leistung und dem Erinnerungsvermögen beteiligt sind (Sandi & Rose 1997). Die über mehrere Jahre andauernde Versuchsreihe von Sandi (1994; 1994; 1997) befasste sich eingehend mit dem Zusammenspiel von Kortikosteron und kognitiver Leistung und dem daraus resultierenden Gedächtnispotential. Dabei basierten alle Versuche auf dem Prinzip des passiven Vermeidungslernens bei Küken (Perle mit abstoßend schmeckender Substanz). Der beabsichtigte Lernerfolg (das Bepicken der

Perle zu vermeiden) und das Gedächtnisvermögen der Küken wurden nach einer gewissen Trainingsphase in bestimmten Zeitabständen (0,5, 4 und 24 Stunden nach Trainingsende) getestet.

Initial starteten die Experimente von Sandi (1994), indem die Effekte eines Kortikosteronantagonisten erforscht wurden. Die Blockade der Glukokortikoid-Rezeptoren erfolgte durch bilaterale intrakraniale Injektion eines Antagonisten im Bereich des IMHV und zwar 15 min vor Trainingsbeginn. Die Auswertung zeigte, dass sich zwischen Kontroll- und Behandlungsgruppe nach 30 min noch keine signifikanten Unterschiede in der Ausprägung des Gedächtnisvermögens darstellten, jedoch nach 4 und 24 Stunden. Die Küken mit appliziertem Rezeptorantagonist erzielten signifikant ungünstigere Ergebnisse, indem sie weniger häufig die Perle mit abstoßendem Geschmack vermieden. Hierbei vollzog sich dosisabhängig allerdings ein U-Form Effekt, indem niedrige (0,25 ng) und hohe (2,00 ng) Antagonistdosierungen pro Küken keine Differenzen aufwiesen, aber die Dosis 1,00 ng/Küken Auswirkungen zeigte.

Eine weitere Möglichkeit die Kortikosteronbeteiligung bei Lern- und Gedächtnisvorgängen zu überprüfen, wäre die Analyse der Reaktionen auf exogene Kortikosteronzufuhr. Diesbezüglich kam Sandi (1994) in seinen Untersuchungen zu der Schlussfolgerung, dass die intrakraniale Verabreichung von Kortikosteron zu signifikant besseren Erfolgen hinsichtlich des Vermeidungslernens führte. So konnten Küken, die Kortikosteron erhielten, nach 24 Stunden häufiger auf das Gelernte zurückgreifen, als Kontrollen, die mit Salzlösung behandelt wurden. Wiederum spielte die Dosis, sowie der zeitliche Abstand zur Applikation eine wichtige Rolle. 1,00 µg Kortikosteron pro Küken, und zwar appliziert zwischen 15 min vor und 60 min nach dem Training, erzielten die beste Leistung.

Die weiterführende Studie von Sandi (1997) setzte ihren wissenschaftlichen Schwerpunkt auf die Ermittlung des physiologischen Kortikosterongehaltes der Versuchsküken. Festzuhalten wäre hier, dass diejenigen Küken, die 5 min nach dem Training die höchsten Kortikosteronwerte (ca. 30,0 µg/l = 87,0 nmol/l) aufgewiesen hatten, im Gedächtnistest signifikant bessere Resultate aufweisen konnten, als Küken mit nur basalen Kortikosteronwerten.

Aus all diesen Ergebnissen kann man schließen, dass Kortikosteron bei Vorgängen im Gehirn und der Formierung vom Gedächtnis involviert ist. Die Versuchstiere kamen dann zu den besten Erfolgen, wenn sie einerseits habituell, oder seitens exogener Zufuhr über hohe Kortikosteronwerte verfügten, oder andererseits nicht mit Rezeptorantagonisten gegen Kortikosteron behandelt wurden.

In Anbetracht der Tatsache, dass der Kortikosteronspiegel im Blutplasma unter Einwirkung von Stress steigt, kann man aus den Fakten der oben aufgeführten Studien konsequenterweise folgern, dass Stress sich ebenfalls auf die Lern- und Gedächtnisleistung auswirken müsste. So verglich eine Studie die kognitive Leistung von gestressten Mäusen mit jener von nicht gestressten Artgenossen. Stressauslösend war in diesem Fall die visuelle Konfrontation mit einer Katze, wobei es dem Beutefänger nicht möglich war, die Mäuse zu verletzen. Die Kontrollgruppe erfuhr das gleiche Handlingprozedere, ohne visuell mit der Katze konfrontiert zu werden. Die Bewertung des Lernvermögens erfolgte unter anderem über den Einsatz eines kreisförmigen Labyrinths. Überraschenderweise resultierte aus diesem Versuch eine abgeschwächte kognitive Leistung bei jenen Mäusen, die dem Beutejäger ausgesetzt waren. Die Kontrollgruppe erzielte signifikant bessere Ergebnisse (El Hage, Griebel et al. 2006).

3 Material & Methoden

3.1 Versuchstiere und tierexperimentelle Vorgehensweise

Für die Studie standen insgesamt 102 Legehennen zur Verfügung. Dabei teilte sich die Gesamtzahl der Versuchstiere in 48 Hennen der Legelinie Lohmann Brown (LB) und 54 Hennen der Legelinie Lohmann Selected Leghorn (LSL). Alle Hennen kamen aus der Bioaufzucht der Firma Lohmann White-LSL-Brown, Verkaufsniederlassung Gut Heinrichsruh. Die Unterbringung im Versuchstierstall des Lehrstuhls für Physiologie an der Tierärztlichen Fakultät München erfolgte mit 19 Lebenswochen, kurz vor Beginn der Legereife.

Das Versuchsvorhaben, das bei der Regierung von Oberbayern unter der laufenden Tierversuchsnummer Az. 55.2-1-54-2532-110-11 genehmigt worden war, beinhaltete einerseits den Vergleich zweier Legehybridlinien, andererseits die Beurteilung, ob und inwieweit Legehennen durch Kreuzen der Flügel, als Praxis-übliche Fixationsmaßnahme z.B. in der kommerziellen Geflügelhaltung, nachweisbar gestresst werden. Zur Erfassung möglicher Stressreaktionen der Legehennen auf das Kreuzen der Flügel sollten neben der Analyse verschiedener Blutparameter auch das Verhalten und mögliche Auswirkungen auf kognitive Leistungen (z.B. Orientierung in einem Y-Labyrinth) erfasst werden. Dazu wurden die Tiere beider Legelinien in jeweils vier weitere Kleingruppen eingeteilt. So gab es für den Bereich der Blutparameterkontrolle und für den Bereich der Verhaltensstudie pro Linie jeweils eine Kontroll- und eine Stressgruppe (s. Tab. 3.1).

Von diesen 102 Legehühnern konnten jedoch nur 91 Tiere entsprechend dieser Versuchsvorgaben in vollem Umfang genutzt werden (s. Tab. 3.1). Sechs Tiere wurden ausschließlich für die Bestimmung der Körpertemperatur herangezogen, fünf Tiere fielen hauptsächlich wegen Problemen bei der Blutentnahme aus dem Versuchsvorhaben raus.

Die gesamte Studie erstreckte sich über den Zeitraum von Oktober 2011 bis Juli 2012.

Tab. 3.1: Versuchsspezifische Gruppeneinteilung der Hennen der Hybridlinie LB (Lohmann Brown) und der Hennen der Hybridlinie LSL (Lohmann Selected Leghorn)

	LB		LSL	
	Blutentnahme	Verhaltensversuch	Blutentnahme	Verhaltensversuch
K	12 Tiere ($B_{K, LB}$)	10 Tiere ($V_{K, LB}$)	14 Tiere ($B_{K, LSL}$)	10 Tiere ($V_{K, LSL}$)
S	13 Tiere ($B_{S, LB}$)	10 Tiere ($V_{S, LB}$)	12 Tiere ($B_{S, LSL}$)	10 Tiere ($V_{S, LSL}$)

- K:** Kontrollgruppe
- S:** Stressgruppe
- $B_{K, LB}$:** Blutentnahme aus der Kontrollgruppe LB
- $B_{S, LB}$:** Blutentnahme aus Stressgruppe LB
- $B_{K, LSL}$:** Blutentnahme aus Kontrollgruppe LSL
- $B_{S, LSL}$:** Blutentnahme aus Stressgruppe LSL
- $V_{K, LB}$:** Verhaltensversuch aus Kontrollgruppe LB
- $V_{S, LB}$:** Verhaltensversuch aus Stressgruppe LB
- $V_{K, LSL}$:** Verhaltensversuch aus Kontrollgruppe LSL
- $V_{S, LSL}$:** Verhaltensversuch aus Stressgruppe LSL

3.2 Haltung, Fütterung, Handling

Der klimatisierte Tierstall wies im Mittel eine Raumtemperatur von 21 °C und eine relative Luftfeuchte im Bereich von 60 ± 15 % auf. Ein Hell-Dunkel-Lichtregime wurde im 12:12 Rhythmus geschaltet (hell ab 7:00 bzw. 8:00 Uhr MEZ bzw. MESZ und dunkel ab 19:00 bzw. 20:00 Uhr MEZ bzw. MESZ). Gemessen in der Mitte des Raumes und 1 Meter über dem Fußboden betrug die Lichtintensität 140 Lux. Im gesamten Raum befanden sich für einen kompletten Versuchsablauf nicht mehr als 20 Tiere gleichzeitig. Dies ergab bei der oben aufgeführten Gesamttierzahl eine Einteilung in fünf Gruppen, die sich nacheinander für fünf Wochen im Versuchstierstall aufhielten. Im Anschluss an eine Gruppe wurde der Stall gründlich gereinigt, desinfiziert und für die nächste Versuchsreihe vorbereitet.

Die Einstellung erfolgte nach Legelinie und paarweise in ausgestalteten Käfigen. Jeder dieser Käfige belief sich auf 80x80x75 cm Größe und beinhaltete eine 80 cm lange Sitzstange, die in einer Höhe von 25 cm über die gesamte Breite des Käfigs angebracht war. Zusätzlich stand den Tieren in einer Makrolon®-Unterschale vom Typ III mit einer Bodenfläche von 810 cm² ein Sandbad (Fa. Sakret, Berlin, Quarzsand entstaubt und gewaschen) zur Verfügung. Als Beschäftigungs- und Nistmaterial wurde täglich Heu und Stroh in kleinen Mengen in die Käfige gegeben.

Die Hennen wurden jeden Nachmittag von Tierpflegern kontrolliert und mit Futter, Wasser und Einstreu versorgt. Das Ausmisten der Käfige erfolgte nachmittags im wöchentlichen Abstand. Zur weiteren und genaueren Kontrolle der Tiergesundheit wurde der Tierstall hinsichtlich Raumtemperatur und Luftfeuchte täglich überprüft. Um den Verlauf des Körpergewichts der Tiere zu erfassen, fand zudem einmal pro Woche das Wiegen (Tierwaage, Fa. Kern & Sohn GmbH, Balingen, DE6KO.5N) der Hühner statt.

Das für die Tiere stets zugängliche Trinkwasser befand sich in Wassertrögen an den Käfigseiten. Auch die Fütterung erfolgte ad libitum. Der Zugang zu den Futterpellets, ein Gemisch aus 1/3 Junghennenfutter (Korngold®, Junghennenkorn C PE, Alleinfuttermittel für Junghennen ab der 7. Lebenswoche, Raiffeisenkraftfutterwerke Süd GmbH) und 2/3 Ergänzungsfuttermittel für Legehennen (Korngold® Legekorn S, Ergänzungsfuttermittel für Legehennen, Raiffeisenkraftfutterwerke Süd GmbH), wurde den Tieren durch die Gitterstäbe der Käfigtüre ermöglicht. Der Futtertrog war über die gesamte Breite des Käfigs angebracht und die Hennen konnten problemlos zeitgleich Futter aufnehmen. Ein für die Verdauung nötiger Geflügelgrit (Korngold®, Geflügelgrit, Raiffeisenkraftfutterwerke Süd GmbH) war den Pellets regelmäßig beigemischt. Abgesehen von der gewöhnlichen ad libitum Fütterung, wurden die Tiere während der Versuche über Nacht zwischen 15:30 bzw. 16:30 Uhr (MEZ bzw. MESZ) und Versuchsbeginn am nächsten Tag 9:00 bzw. 10:00 Uhr (MEZ bzw. MESZ) nüchtern gesetzt. Dies gewährleistete einerseits eine möglichst einheitliche nutritive bzw. metabolische Ausgangsbasis vor der Blutentnahme, andererseits steigerten wir dadurch die Motivation der Tiere, in den mit Futter belohnten Lernversuchen.

Für den Versuchsablauf war es wichtig, bei allen Legehennen möglichst gleiche Versuchsbedingungen zu schaffen. Dies galt insbesondere für die Gewöhnung der Tiere an die versuchsdurchführenden Personen. Deshalb absolvierten alle Tiere ein identisches Handling, das entsprechend einem speziell dafür angefertigten Trainingsplan vollzogen wurde. Daraus resultierte eine Gewöhnung an die Personen und an verschiedene Situationen, welche im Versuch regelmäßig vorkamen. Geübt wurden das Herausfangen aus dem Käfig, das Tragen zur Waage, die Gewöhnung an das Y-Labyrinth samt der Belohnungsplätze, das Verweilen in einer Transportbox aus Karton, während das Partnertier im Käfig zurückblieb und zuletzt auch die Fixierung in Seitenlage auf dem Behandlungstisch als Vorbereitung auf die Blutentnahme. Außerdem bekamen die Hennen Weizenkörner zu fressen, die sich entweder in grauen Kartonnäpfen, oder in roten Plastiknäpfen befanden. Die Weizenkörner dienten im späteren Verhaltensversuch als Belohnung und sollten zu diesem Zeitpunkt von den Tieren gut angenommen werden. Die Versuche begannen stets nach Eingewöhnung und mit Einsetzen der Legereife im Alter von 20 Wochen \pm 1-2 Wochen.

3.3 Blutentnahmen, Kontrolle der Körpertemperatur und Stressinduktion

Um das Blut zu gewinnen, setzte man den Legehühnern vor der ersten Blutentnahme an der Vena ulnaris einen Venenverweilkatheter (Vasofix® 1,1x2,5 mm, Fa. Braun, Melsungen). Für diesen Zweck fixierte eine Hilfsperson das Huhn auf dem Arbeitstisch in Seitenlage. Die Einstichstelle wurde mit Ethanol 70 % desinfiziert und im Anschluss die Vene punktiert. Nach dem erfolgreichen Legen des Venenzugangs wurde bei allen nachfolgenden Blutentnahmen Blut mit einer auf die Braunüle aufgesetzten 3 ml Spritze (Single Use Syringe®, Fa. Henry Schein, Hamburg) gewonnen und direkt danach in ein EDTA-Röhrchen (S-Monovette 2,7 ml K3E®, 1,6 mg EDTA/ml Blut, Fa. Sarstedt AG & Co, Nümbrecht) überführt. Mittels Zentrifugation (Biofuge Pico, Fa. Heraeus Instruments, Hanau) bei 13000 U/min und einer Zeit von 10 min wurde Blutplasma gewonnen, das anschließend in Cryoröhrchen überführt bei -80 °C gelagert wurde.

Zwischen den Entnahmen wurde die Braunüle mit einem zurecht geschnittenen Mandrin (Vasofix® 20Gx33 mm, Fa. Braun, Melsungen) verschlossen und den Tieren selbst ein Körperverband mit Hilfe einer Co-Flex®-Bandage (Fa. Andover, Salisbury, USA) angelegt, damit sie während den Pausen in der Kartonbox den venösen Zugang nicht entfernen konnten. In einigen wenigen Fällen gelang es den Tieren trotz Körperverband die Braunüle selbst zu ziehen, in anderen Fällen kam es auch vor, dass zu fortgeschrittenen Zeitpunkten der venöse Zugang durch Gerinnungsvorgänge verlegt war. Somit wurde entweder ein neuer Zugang an der Vena ulnaris des zweiten Flügels gelegt, oder auch die Probe mithilfe einer Kanüle (0,9x40 mm, Fa. Braun, Melsungen) aus der Vena jugularis dextra gewonnen. Falls dies alles nicht möglich war, wurde der Zeitpunkt ausgelassen.

Was den Verlauf der Blutentnahmen betrifft, so ergab sich für alle Tiere zeitlich das gleiche Prozedere (s. Abb. 3.1). Die erste der vorgesehenen Entnahmen begann morgens um 9:00 Uhr (MEZ) (ZP 0, bzw. 0 min). An einem Vormittag konnte durch eine sinnvolle zeitliche Staffelung des Entnahmebeginns eine Kapazität für 2-3 Hühner geschaffen werden.

Danach ergab sich die Auftrennung innerhalb der beiden Linien in Kontroll- und in Stresstiere. Bei letzteren wurde direkt nach der ersten Blutentnahme und der Ermittlung der Körpertemperatur ein Stresszustand eingeleitet, indem dem Huhn die Flügel gekreuzt wurden und es somit immobilisiert war. Das Tier befand sich in dieser Haltung für 30 min auf einer sich auf dem Boden befindlichen Matte. Um eventuelle Befreiungsversuche zu verhindern, fixierte man die Ständer der Tiere mit einer Co-Flex®-Bandage (Fa. Andover, Salisbury, USA) und beschwerte den Rumpf mit einem gefalteten Handtuch. Falls es bei einigen Tieren dennoch zu Befreiungen kam, wurden diese erneut fixiert, abgelegt und der Befreiungsversuch notiert. Die Kontrolltiere verbrachten diese halbe Stunde in einer Transportbox aus Karton. Sofort im Anschluss an die 30-minütige Fixation bzw. Wartezeit nahm man die zweite Blutprobe (ZP 1, bzw. 30 min). Danach kam es in zeitlich festgelegten Abständen zum Ziehen vier weiterer Blutproben (ZP 2- 5, bzw. 45, 75, 105, 135 min). Zwischen diesen Blutentnahmezeitpunkten kamen ausnahmslos alle Gruppen in eine Transportbox aus Karton. Das heißt, der Stressor wurde nur einmalig zwischen der ersten und zweiten Blutentnahme durchgeführt.

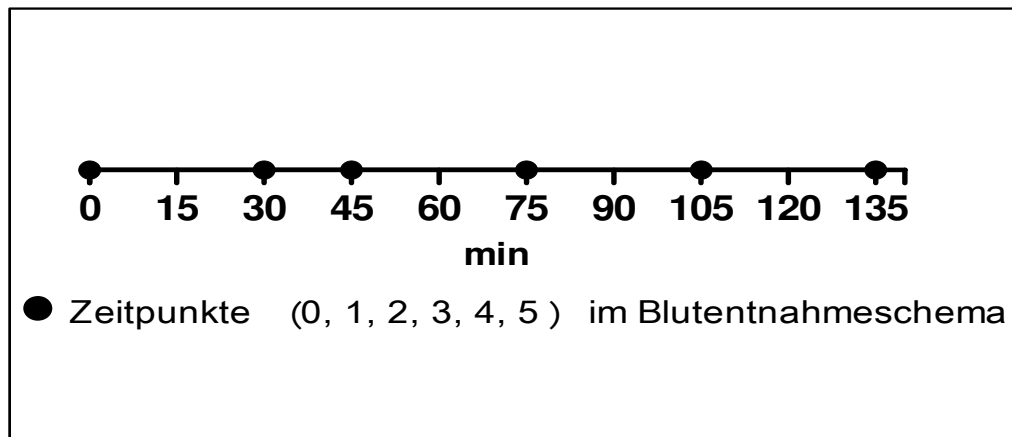


Abb. 3.1: Übersicht Zeitverlauf der Blutentnahme bei einem Tier

Das Messen der Körpertemperatur erfolgte kloakal mit einem handelsüblichen digitalen Fieberthermometer (SFT01/1, Fa. Sanitas, Uttenweiler) stets nach jeder einzelnen Blutentnahme.

Alle Hennen erhielten ein eigenes Protokoll, das die genaue Vorgehensweise während der Blutentnahme, die Ermittlung der Körpertemperatur und eventuelle Besonderheiten festhielt.

3.4 Laboranalytische Methoden

3.4.1 Ermittlung des Kortikosterongehalts in den Blutplasmaanalysen

Die Konzentration von Kortikosteron wurde mittels ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay DE 4164 von der Firma Demeditec Diagnostics GmbH, Kiel) bestimmt.

Vor der Durchführung des ELISA wurden alle zu analysierenden Plasmaanalysen nach Herstellerangaben extrahiert.

Dabei wurde nach dem Auftauen der bei -80 °C gelagerten Proben, in einem ersten Schritt 1 ml Ethylacetat zusammen mit 180 µl der Plasmaanalyse vermischt. In

Vorversuchen konnte ermittelt werden, dass diese Probenmenge optimale Ergebnisse lieferte. Die Proben wurden 10 min geschüttelt (Typ REAX2, Fa. Heidolph Kelheim) und anschließend, um eine Phasentrennung zu erzielen, bei 13000 U/min für 2 min zentrifugiert (Biofuge Pico, Fa. Heraeus Instruments, Hanau). Entnommen aus der Zentrifuge sah es das Protokoll vor, die Probe bei -20 °C einzufrieren. Nach ca. 24 Stunden wurden die einzelnen Proben dekantiert. Um das Verdampfen des Ethylacetats zu beschleunigen, kam eine Vakuumzentrifuge (Speed Vac Concentrator, Fa. Savant, Bachhofer, Reutlingen) zum Einsatz. Nach ca. 17 Stunden war das Lösungsmittel verdampft und das extrahierte Probenmaterial kam bis zur Durchführung des ELISA in eine -80 °C Gefriertruhe.

Vor dem Einsatz des ELISA zur Kortikosteronbestimmung aus den aufbereiteten Plasmaproben, wurde der Testkit mit Blutproben aus Vorversuchen auf seine Eignung überprüft und im Anschluss validiert. Es handelte sich hierbei um einen Festphasen-Enzymimmunoassay mit dem Prinzip der kompetitiven Bindung. Die Wells der Mikrotiterplatte waren mit polyklonalen Antikörpern gegen eine Antikörper-Bindungsstelle des Kortikosterons beschichtet. Das Kortikosteron aus der Blutprobe konkurrierte dabei mit dem Kortikosteron-Enzymkonjugat um freie Bindungsstellen in den Wells. Nicht gebundenes Konjugat wurde durch Waschen der Platte entfernt. Nach Zugabe einer Substratlösung wurde die Farbentwicklung nach einer gewissen Zeit gestoppt. Somit hing die Intensität der Farbbildung von der Konzentration des Kortikosterons ab. Je stärker die Farbentwicklung, desto geringer der Kortikosterongehalt im Blut. Die Beschickung der ELISA-Platte sowie die Inkubationsbedingungen und die photometrische Messung richteten sich nach der Testanleitung von Demeditec.

Die Berechnung der Kortikosteronkonzentration erfolgte mit Hilfe von Prism® Version 5.04 über eine Eichkurve (cubic spline). Ausgangsbasis dafür waren die Extinktionswerte der photometrischen Messungen. Um die Extraktionsbedingungen zu berücksichtigen, mussten diese Werte noch korrigiert werden. Der hierfür errechnete Korrekturfaktor belief sich auf 0,33.

3.4.2 Validierung des ELISA-Kits

Wie aus der unten angeführten Tabelle (s. Tab. 3.2) zu entnehmen ist, ergaben sich aus der durchgeführten Validierung Werte, die auf eine gute Eignung des Testkits schließen lassen konnten. Angaben zum Messbereich, zur Spezifität der Antikörper-Kreuzreaktivität und zur analytischen Sensitivität wurden aus der Testanleitung der Firma Demeditec übernommen. Die Präzisionsreihen und die Wiederfindung wurden eigens ermittelt.

Material & Methoden

Tab. 3.2: Ergebnisse der Validierung des ELISA-Kits

Messbereich	0-240 nmol/l	
<u>Spezifität der Antikörper</u> <u>(Kreuzreaktivität)</u>	Komponente	Kreuzreaktivität [%]
	Kortikosteron	100
	Progesteron	7,4
	Deoxykortikosteron	3,4
	11-Dehydrokortikosteron	1,6
	Kortisol	0,3
	Pregnenolon	0,3
	Andere Steroide	<0,1
<u>Analytische Sensitivität</u>	Mittelwert minus zweifacher Standardabweichung des Standards 0 (n=20) <1,631nmol/l	
<u>Präzision Intra Assay Variation</u>		
Probe 1		
Anzahl [n]	8	
Konzentration[nmol/l]	8,90	
VK [%]	2,65	
Probe 2		
Anzahl [n]	8	
Konzentration[nmol/l]	25,66	
VK [%]	4,10	
<u>Präzision Inter Assay Variation</u>		
Interner Standard Platte 1		
Anzahl [n]	2	
Konzentration[nmol/l]	43,34	
VK [%]	2,72	
Interner Standard Platte 2		
Anzahl [n]	2	
Konzentration[nmol/l]	45,09	
VK [%]	0,92	
<u>Wiederfindung [%]</u>		
Probe 1 (+15nmol/l)	95,14	
Probe 2.1 (+15nmol/l)	81,16	
Probe 2.2 (+30nmol/l)	85,65	

3.4.3 Messung weiterer Parameter im Blutplasma

Die Parameter Glukose, Harnsäure und Freie Fettsäuren wurden mithilfe eines Autoanalysers (Cobas c 311, Roche Hitachi, Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) und den dafür vorgesehenen Standardtestkits quantitativ erfasst (s. Tab. 3.3). Bei jeder dieser Messungen mittels Testkits, handelte es sich um ein etabliertes enzymatisches Verfahren. Die Ermittlung der Parameter fand direkt im gewonnenen Blutplasma ohne weitere Aufbereitung der Proben statt. Der hierfür zur Verfügung stehende Autoanalyser befand sich in der Klinik für Wiederkäuer der Tierärztlichen Fakultät München, in Oberschleißheim.

Tab. 3.3: Standardisierte Testkits zur Messung von Glukose, Harnsäure und Freien Fettsäuren (NEFA: Non Esterified Fatty Acids) in Blutplasma-Proben

Blutparameter	Testkit
Glukose	Glucose HK, Gluc2, 20767131322V9, Roche/Hitachi cobas® c Systeme, Mannheim
Harnsäure	Uric Acid ver.2, UA2, 03183807190V7, Roche/Hitachi cobas® c Systeme, Mannheim
Freie Fettsäuren	NEFA, Manual/RX Monza FA115, Randox Laboratories Limited, Crumlin, UK

3.4.3.1 Glukose-Bestimmung

Das Testprinzip der Glukosekonzentrationserfassung in Blutplasma-Proben beruht auf einer enzymatischen Referenzmethode mit Hexokinase und einer photometrischen Messung im UV-Bereich. Die Hexokinase katalysiert die Phosphorylierung von Glukose durch ATP zu Glukose-6-phosphat. Glukose-6-phosphat wird in Gegenwart von NADP durch die Glukose-6-phosphatdehydrogenase zu Glukonat-6-phosphat oxidiert (s. Abb. 3.2). Andere Kohlenhydrate werden nicht oxidiert. Die Bildungsgeschwindigkeit von NADPH während der Reaktion ist direkt proportional zur Glukosekonzentration und wird photometrisch gemessen.

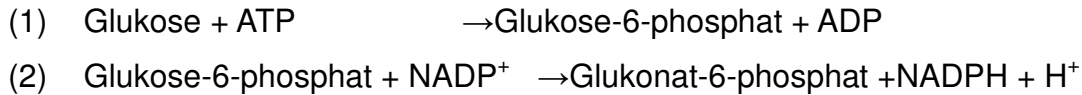


Abb. 3.2: Reaktionsgleichung zur Ermittlung der Glukosekonzentration

3.4.3.2 Harnsäure-Bestimmung

Die Harnsäure wird ebenfalls über einen enzymatischen Farbtest gemessen. Dabei wird Harnsäure durch Uricase in Allantoin und Wasserstoffperoxid gespalten. Mit Hilfe von Peroxidase wird 4-Aminophenazon durch Wasserstoffperoxid zu einem Chinondiiminfarbstoff oxidiert (s. Abb. 3.3). Die Farbintensität des gebildeten Chinondiimins ist direkt proportional zur Harnsäurekonzentration und wird durch Messung der Extinktionszunahme bestimmt.

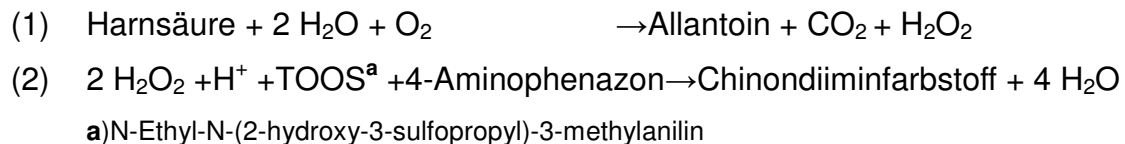


Abb. 3.3: Reaktionsgleichung zur Ermittlung der Harnsäurekonzentration

3.4.3.3 Freie Fettsäuren-Bestimmung

Die nicht veresterten Fettsäuren (NEFA bzw. FFS) werden auch mit einem kolorimetrischen Verfahren ermittelt. Die Intensität der Farbreaktion wird durch eine Absorptionsmessung bestimmt (s. Abb. 3.4). In einem ersten Schritt werden die Freien Fettsäuren durch die Acyl-CoA-Synthetase, Coenzym A und ATP zu Acyl-CoA, AMP und Phosphorsäure (PPi) umgewandelt. Das daraus entstandene Acyl-CoA wird mithilfe von Acyl-CoA-Oxidase zu 2,3-trans-Enoyl-CoA und Wasserstoffperoxid (H₂O₂). Im letzten Schritt kommt es durch die Peroxidase, N-Ethyl-N-(2-hydroxy-3-

sulfopropyl)-3-methylanilin und 4-Aminoantipyrin zu einer blau-violetten Farbbildung, anhand der die Konzentration der Freien Fettsäuren gemessen werden kann.

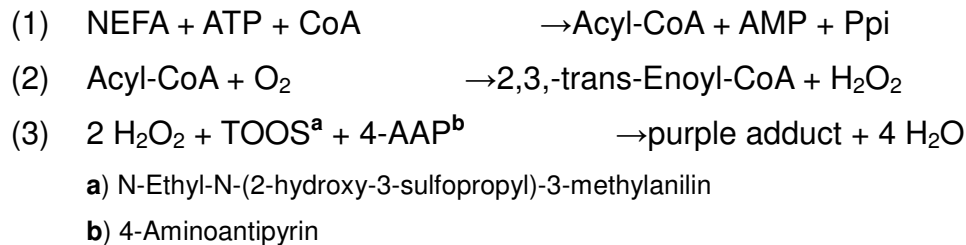


Abb. 3.4: Reaktionsgleichung zur Ermittlung der Konzentration der Freien Fettsäuren

3.4.4 Statistische Auswertung und graphische Darstellung der Messergebnisse

Die statistische Auswertung aller Messergebnisse wurde mit der Software SigmaStat®, Version 3.0 (1992-2003) durchgeführt. Abhängig von der Gruppengröße, von der Normalität und der Varianz kamen dabei eine Spearman Rank Order Correlation bzw. eine Pearson Product Moment Correlation, der t-Test (Student's Test) bzw. der Mann-Whitney Rank Sum Test, eine One-Way Analysis of Variance bzw. eine Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks und eine One-Way Repeated Measures ANOVA bzw. eine Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks zur Anwendung. Das Signifikanzniveau α betrug bei allen Tests 0,05. Alle Diagramme wurden mithilfe der Software Graph Pad Prism 5®, Version 5.04 (2010) angefertigt.

3.5 Lern- und Verhaltensuntersuchungen

3.5.1 Versuchsaufbau

Der Lernversuch wurde in einem Y-förmigen Lauflabyrinth (Eigenbau) durchgeführt (s. Abb. 3.5). Die Länge des Labyrinths betrug ohne Startbox und ohne die Arme der Y-Form 100 cm, die Startbox, die über eine Art Tor vom Parcours abgesetzt war, wies eine Größe von 40 cm Länge und 50 cm Breite auf. Die beiden Arme des Labyrinths hatten eine Länge von je 90 cm und die Höhe des gesamten Labyrinths belief sich auf 60 cm. Um den Tieren eine geeignete Lauffläche zu bieten, wurde mit Sägespäne eingestreut. Während der ersten Versuchstage befand sich direkt über dem Labyrinth zusätzlich ein Gitter, damit die Tiere nicht die Möglichkeit hatten, nach oben aus dem Y-Labyrinth zu entfliehen. Zu jedem Versuch wurde das Huhn über die Startbox, die nach oben abgedeckt war, in den Parcours entlassen.

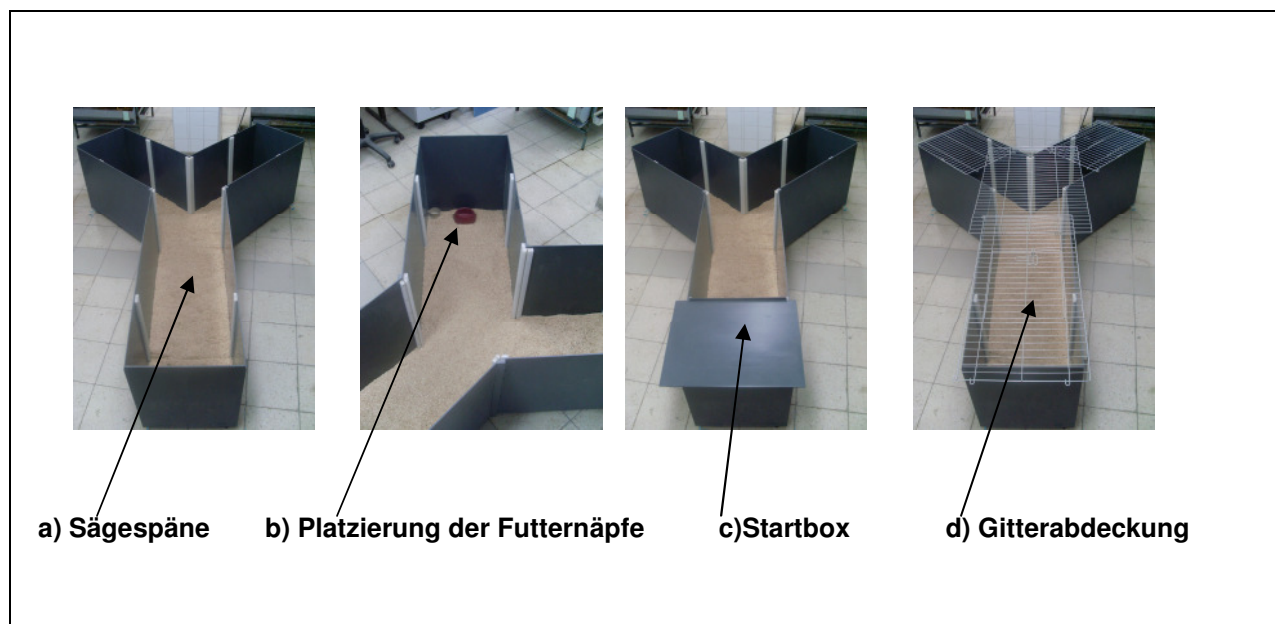


Abb. 3.5: a-d) Ansichten auf das Y-Labyrinth mit jeweils unterschiedlichem Aufbau

Die Trennung der Versuchstiere in Kontroll- und Stresstiere vollzog sich nach Abschluss der Trainingswoche. Die Methode die Tiere zu stressen entsprach jener, die im Blutentnahmeprogramm verwendet und dort bereits beschrieben wurde (s.

3.3). Das bedeutet, die Stresstiere wurden unmittelbar vor dem Lernversuch 1 für 30 min durch Flügelkreuzen und Ständerbandagen immobilisiert und auf einer Matte im Raum abgelegt. Die Kontrolltiere befanden sich während dieser 30 min in einer abgedunkelten Transportbox aus Karton.

3.5.2 Versuchsablauf

Zeitlich erstreckte sich der Versuch zur Erfassung von kognitiven Leistungen über zwei Wochen. Die erste Woche fungierte als Trainingsphase. An drei aufeinander folgenden Tagen, für alle Gruppen Mittwoch, Donnerstag und Freitag, hatten die Hühner die Chance, sich den Herausforderungen zu stellen und Zusammenhänge von Seitenwahl und Belohnung mitzuverfolgen. Die gestellten Aufgaben im Y-Labyrinth (=Maze) variierten von Tag zu Tag. Im Anschluss hatten die Tiere vier Tage Pause. In der zweiten Woche, der Versuchswoche, wurde jeweils am Mittwoch, Donnerstag, Freitag überprüft, ob die Tiere das win-shift-Prinzip (s.u.) erlernen können.

An jedem Versuchstag startete die erste von zehn Legehennen um 9:00 Uhr MEZ. Die jeweiligen nachfolgenden Tiere ca. 10 min später. Dabei wurde die Reihenfolge der Tiere an allen Tagen strikt eingehalten. So war jede einzelne Henne annähernd zur gleichen Zeit beschäftigt wie die anderen Tage auch.

Der Ablauf im Maze gestaltete sich wie folgt: Pro Versuchstag hatte jedes Huhn die Möglichkeit, während 10 Trials à 15 Sekunden die von ihm geforderte Aufgabe zu erkennen. Die Belohnung in Form von 50 g Weizen wurde je nach Aufgabenstellung, in einem bzw. beiden Armen des Labyrinths deponiert. Vor jedem einzelnen Trial kam das Tier in die Startbox. Alle 10 Trials begannen immer zur vollen Minute. In dieser einen Minute standen dem Tier 15 Sekunden im Parcours zur Verfügung. Während der restlichen 45 Sekunden wurde das Huhn aus dem Labyrinth gehoben, in die Startbox zurückgebracht und gewartet bis die nächste Minute begann, um von neuem zu starten. Dieser Ablauf wiederholte sich 10 mal. Nach jedem Trial wurde notiert, wie sich das Tier während der 15 Sekunden im Y-Labyrinth verhalten hatte.

Somit ergab sich pro Tag und Tier eine Parcours-Gesamtzeit von 9 Minuten und 15 Sekunden. Nachdem eine Henne alle 10 Durchläufe absolviert hatte, wurde der Weizen abgewogen (Präzisionswaage TE 15025, Fa. Sartorius, Göttingen) und die nicht gefressene Weizenmenge notiert.

Folgende Aufgaben pro Tag im Y-Labyrinth hatten die Hennen zu absolvieren:

1. Trainingstag (Durchlauf 1 von 6):

Am 1. Trainingstag fand der Aufmerksamkeitstest statt. Hierbei wurde während der ersten 9 Trials jeweils nur ein, nach dem Zufallsprinzip ausgewählter Arm mit Weizen belohnt. Der auf 50 g abgewogene Weizen befand sich in einem kleinen Kartonnäpf. Daneben befand sich ein leerer auffälliger roter Plastiknapf, der die belohnende Seite entsprechend markierte und so als Signalnapf diente. Die andere Seite hatte lediglich einen Kartonnäpf ohne Weizen zu bieten. Das Huhn sollte dabei lernen, dass auf der Seite des Signalnapfes auch die Belohnung zu finden war. Im 10. Trial wurden die belohnende und nicht belohnende Seite getauscht. Wobei wiederum der rote Napf die belohnende Seite markierte. Dazu wurde notiert, ob das Huhn aufmerksam war und den Tausch bemerkte und sogleich den nun belohnten Arm wählte.

2. Trainingstag (Durchlauf 2 von 6):

Am 2. Versuchstag kamen die unauffälligen Kartonnäpfe zum Einsatz. Der belohnende Kartonnäpf wurde für Trial 1 in den Arm gestellt, in dem er schon am 1. Versuchstag im 10. Trial stand. Dadurch war es möglich, die Gedächtnisleistung der Tiere innerhalb von 24 Stunden zu beurteilen. Im anderen Arm befand sich ein nicht belohnender leerer Kartonnäpf. Diese Seitenverteilung veränderte sich während der verbleibenden 9 Trials nicht mehr. Neben der Beobachtung des Erinnerungsvermögens, wurden an diesem zweiten Tag die Tiere auf eine einzige Richtung im Y-Labyrinth trainiert und so versucht eine Präferenz zu bilden.

3. Trainingstag (Durchlauf 3 von 6):

An Tag 3 der Versuche wurde während Trial 1 nochmals das Gedächtnis der Legehennen überprüft. Der belohnende Kartonnäpf befand sich auf der selben Seite wie am Versuchstag 2. Die darauffolgenden 9 Trials sollten die Flexibilität der Tiere fordern. Die belohnende Seite wurde ausgetauscht und die Tiere konnten sich nun

auf die gewechselte Seite einstellen. Es wurde erwartet, dass sie die gebildete Seitenpräferenz wieder ablegen.

Neben der Beurteilung der Aufmerksamkeit (s.o.) und der Gedächtnisleistung (s.o.) dienten der Futterverbrauch (Weizen in g pro kg Körpergewicht), die Fresszeit (in min) und die Anzahl der direkt richtigen Läufe als weitere Messparameter.

In der zweiten Woche begann das Erlernen der Strategie win-shift. Versuchstage waren wieder zusammenhängend Mittwoch, Donnerstag und Freitag. Der Stressor und somit auch die Einteilung in Versuchs- und Kontrolltiere wurde zu Beginn der win-shift-Taktik gesetzt. Das heißt vor Start von Versuch 1 wurden die Stresstiere zeitlich gestaffelt mit gekreuzten Flügeln für 30 min auf einer Matte am Boden abgelegt. Die Kontrolltiere verbrachten diese 30 min in einer reizarmen Kartonbox.

Das Prinzip des win-shifts sah folgendes vor. Während des ersten Trials waren beide Arme des Y-Labyrinths mit je 50 g Weizen in einem Kartonnapf belohnend. Das heißt, das Tier konnte in dieser Situation nur gewinnen und belohnt werden, unabhängig davon, für welchen Arm es sich entschied. Im darauffolgenden Trial war der Arm belohnend, in dem das Huhn im ersten Trial nicht war. Hat es nun die Wahl richtig getroffen und wurde abermals belohnt, dann wechselte der belohnende Arm wieder zur anderen Seite. War es dagegen falsch gelaufen, blieb der belohnende Napf im 3. Trial auf der gleichen Seite. Genauer gesagt, war das Huhn richtig, dann wurden die Seiten gewechselt. War das Huhn falsch, dann wurde die belohnende Seite für so viele Trials beibehalten, bis die Entscheidung auf den richtigen Arm fiel. Ziel dieses Verfahrens war es also zu erkennen, ob Hühner fähig sind, dieses Prinzip („war die belohnende Seite richtig gewählt, so wechsel beim nächsten Lauf auf die andere Seite, um erneut belohnt zu werden“) zu erlernen bzw. wieviel Zeit sie durchschnittlich benötigen, um zu verstehen.

1. Versuchstag (Durchlauf 4 von 6):

Am 1. Versuchstag und zum Einsatz des Stressors bzw. der Kartonbox für die Kontrolltiere, erhielten die Hennen während der 10 Trials zusätzlich zwei Lernhilfen. Die Seite mit dem belohnenden Kartonnapf wurde stets mit dem gut sichtbaren roten aber leeren Plastiknapf markiert. Zudem kam eine weitere flexible Trennwand zum

Einsatz. Gleich nachdem sich das Tier für eine Richtung entschieden hatte, wurde der Rückweg aus dem Arm bis zum Ablauf der 15 Sekunden mit dieser Trennwand blockiert. Die Hennen hatten damit nicht die Möglichkeit, während eines Trials den Arm zu wechseln und konnten den eventuell begangenen Fehler nicht korrigieren.

2. und 3. Versuchstag (Durchlauf 5 und 6 von 6):

Tag 2 und 3 der Versuche zielten weiterhin darauf ab, die win-shift-Strategie zu erlernen bzw. zu vertiefen. Diese beiden Versuchstage beinhalteten keine Hilfestellungen mehr. Ebenso entfiel der Stressor und die Hennen wurden direkt aus dem Heimatkäfig der Reihe nach ins Y-Labyrinth gesetzt.

Die Beurteilung der Leistung ergab sich bei allen drei Versuchstagen aus der Auswertung von geeigneten Parametern (Futtermittelverbrauch in g/kg Körpergewicht, Fresszeit in min, Anzahl der Korrekturversuche, Anzahl unmittelbar richtiger Läufe, Anzahl der richtigen Läufe mit Korrektur und Anzahl der richtigen Läufe direkt hintereinander).

3.5.3 Statistische Auswertung der Lernversuche

Der gesamte Lernversuch wurde unter zur Hilfenahme von Microsoft Excel protokolliert. Die statistische Auswertung ausgesuchter Parameter erfolgte über die Software SigmaStat®, Version 3.0 (1992-2003). Auch hier kamen in Abhängigkeit von der Gruppengröße, von der Normalität und der Varianz der t-Test (Student's Test) bzw. der Mann-Whitney Rank Sum Test, eine One-Way Analysis of Variance bzw. eine Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks und eine One-Way Repeated Measures ANOVA bzw. eine Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks zur Anwendung. Das Signifikanzniveau α betrug bei allen Tests 0,05. Die Diagramme wurden mithilfe der Software Graph Pad Prism 5®, Version 5.04 (2010) angefertigt.

4 Ergebnisse

4.1 Die körperliche Immobilisierung als Stressor beim Huhn

4.1.1 Standardisierbarkeit und Reproduzierbarkeit der Maßnahme

Generell ist zu sagen, dass das Flügelkreuzen als Mittel zur Fixation zwar immer spontan gelang und zunächst auch die gewünschte Wirkung zeigte, es aber prinzipiell allen Hennen möglich war, sich eigenständig aus der Immobilisierung zu lösen. Dies geschah in der Regel dadurch, dass sich die Tiere in einem ersten Schritt aus eigener Kraft vom Boden abstießen und in einem zweiten Schritt den kurzen Moment in der Luft nutzten, um mit Schwung die Flügel zu entfalten. Insgesamt gesehen waren manche Hennen mit zahlreichen Befreiungsversuchen aufgefallen, manche versuchten es nur wenige Male und andere Tiere nahmen diese Fixation während der gesamten 30 min hin, ohne sich ein einziges Mal zu befreien. Um einen Eindruck über die Reproduzierbarkeit der Stressmaßnahme zu erhalten, wurde die Anzahl der Befreiungsversuche pro Henne registriert. Damit bot sich auch die Möglichkeit anhand der ausgewählten Parameter zur Darstellung der Intensität dieser Stresssituation zu überprüfen, ob durch die Befreiungsversuche die Qualität des Stressors verändert (verschärft) wurde. Tabelle 4.1 zeigt die prozentuale Verteilung der Befreiungsversuche. Nachdem sich eine Henne aus der Immobilisierung gelöst hatte, wurde dies für die beiden Hybridlinien getrennt notiert und die Flügel des betreffenden Tieres erneut gekreuzt.

Ergebnisse

Tab. 4.1: Befreiungsversuche (in % der Tiere) nach dem Flügelkreuzen bei Legehennen der Hybridlinien LB (=21) und LSL (n=22) im Beobachtungszeitraum von 30 min

Befreiungsversuche nach Fixation	LB [%]	LSL [%]
0 mal	24,0	23,0
1 mal	5,0	18,0
2 mal	38,0	23,0
3 mal	0,0	27,0
4 mal	10,0	9,0
5 mal	14,0	0,0
6 mal	5,0	0,0
7 mal	5,0	0,0

Das folgende Diagramm (Abb. 4.1) veranschaulicht die Häufigkeit der Befreiungsversuche in Absolutzahlen. Es ist zu erkennen, dass es durchaus Unterschiede im Verhalten der Legehennen der beiden Hybridlinien gab. So war zu beobachten, dass sich die LB-Tiere öfter und mit mehr Vehemenz gegen die Fixationsmaßnahme durchsetzten. Die LSL-Hennen kamen nicht über vier Befreiungsversuche hinaus, während einige Tiere der LB-Linie bis zu sieben Mal gegen die Fixation rebellierten.

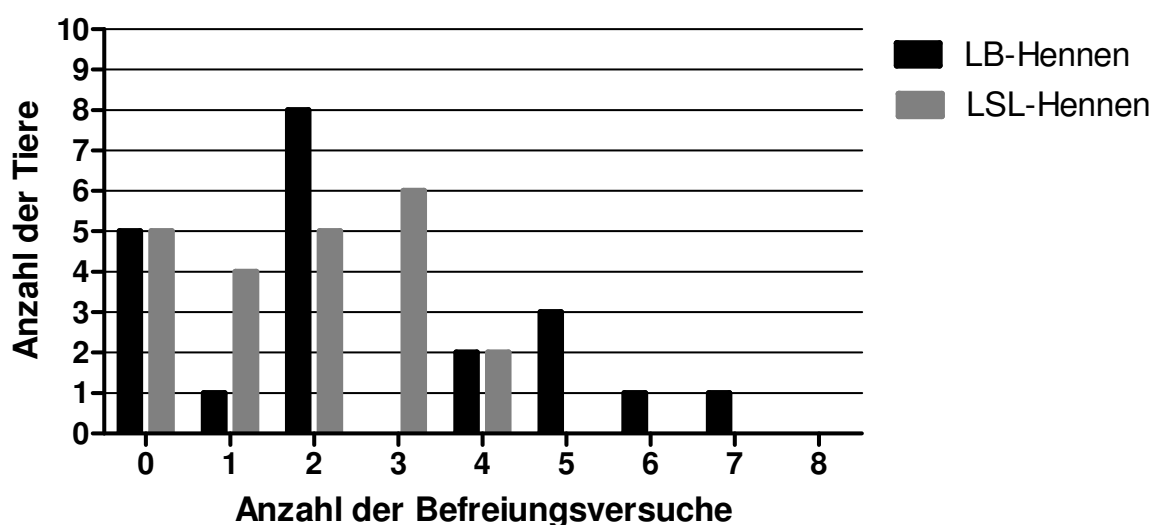


Abb. 4.1: Zahl der Befreiungsversuche nach dem Flügelkreuzen bei Hennen der LB- und der LSL-Hybridlinie

Ergebnisse

Der Vergleich der Mittelwerte aus den absoluten Zahlen (s. Abb. 4.2) scheint diese Linien-Spezifität noch zu verdeutlichen. Für die LB-Hennen wurde dabei in den festgesetzten 30 min eine mittlere Zahl der Befreiungsversuche von $2,52 \pm$ einem Standardfehler von 0,466 ermittelt, für die LSL-Linie belief sich der Mittelwert lediglich auf $1,82 \pm 0,284$. Trotz dieser offensichtlichen zahlenmäßigen Unterschiede ergab sich hierfür mittels des Mann-Whitney Rank Sum Testes keine Signifikanz ($p=0,437$; LB, $n=21$; LSL, $n=22$).

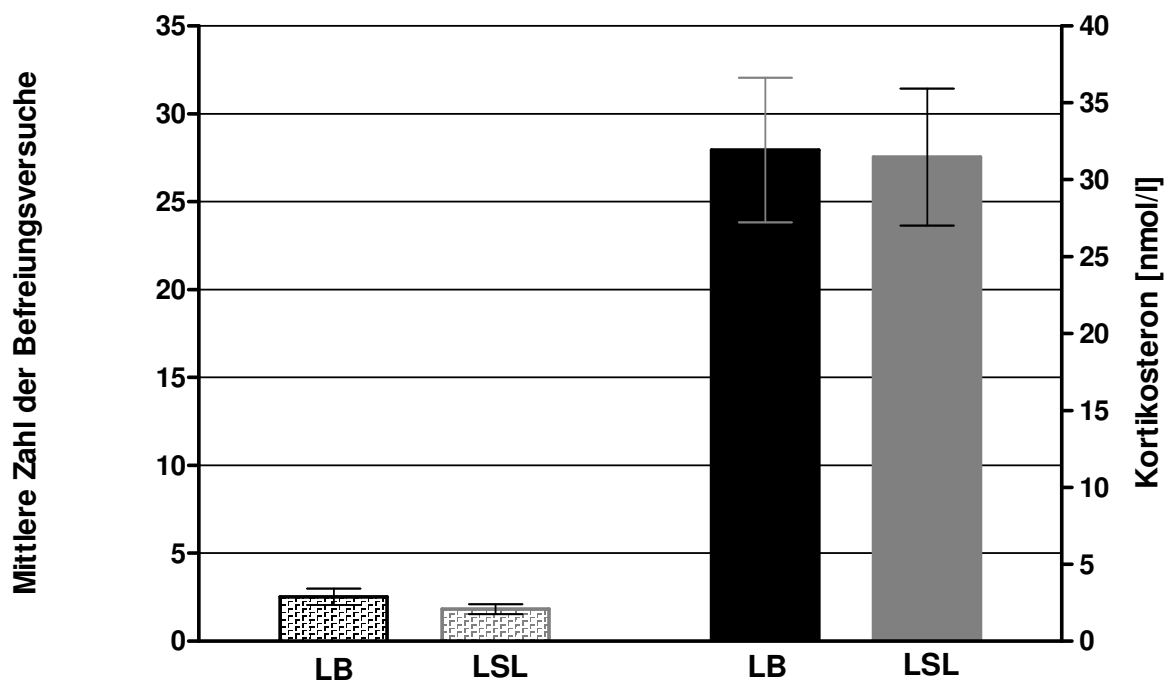


Abb. 4.2: Mittelwert (\pm SE) der Befreiungsversuche nach körperlicher Fixation und Mittelwert (\pm SE) der dabei gemessenen Kortikosteronkonzentration im Blutplasma von Tieren der LB- und der LSL-Hybridlinie

Bei der Gegenüberstellung der Zahl der Befreiungsversuche und des gemessenen Kortikosterongehaltes (s. Abb. 4.2) im Blutplasma zum ZP 1 dieser Tiere konnte für die LB-Linie mithilfe der Spearman Rank Order Correlation gezeigt werden, dass ausgedrückt über den Korrelationskoeffizienten r ($r=-0,081$ und $p=0,778$) von keiner signifikanten Korrelation auszugehen ist (Tab. 4.2).

Ergebnisse

Tab. 4.2: Zahl der Befreiungsversuche nach körperlicher Fixation und Kortikosteronkonzentration im Blutplasma der betroffenen Tiere (n=13) der LB-Linie (beinhaltet nur LB-Hennen aus dem Versuchsabschnitt Blutentnahme)

Tier	Anzahl der Befreiungsversuche	Kortikosteronkonzentration [nmol/l]	Korrelationskoeffizient r	p*
1	2	46,63	-0,081	0,778
2	2	42,26		
3	2	52,04		
4	4	21,18		
5	5	27,31		
6	1	39,96		
7	2	11,46		
8	0	13,74		
9	2	39,80		
10	0	17,49		
11	0	29,46		
12	3	9,97		
13	2	11,86		

* Spearman Rank Order Correlation

Einen eindeutig positiven Zusammenhang ergab die Gegenüberstellung der Zahl der Befreiungsversuche und der Kortikosteronkonzentration im Blutplasma zum ZP 1 bei den Versuchstieren der LSL-Linie. Hier konnte mittels einer Pearson Product Moment Correlation die Existenz einer signifikanten positiven Korrelation nachgewiesen werden ($r=0,726$ und $p=0,012$) (s. Tab. 4.3).

Ergebnisse

Tab. 4.3: Zahl der Befreiungsversuche nach körperlicher Fixation und Kortikosteronkonzentration im Blutplasma der betroffenen Tiere (n=11) der LSL-Linie (beinhaltet nur LSL-Hennen aus dem Versuchsabschnitt Blutentnahme)

Tier	Anzahl der Befreiungsversuche	Kortikosteronkonzentration [nmol/l]	Korrelationskoeffizient r	p*
1	2	35,66	0,726	0,012
2	3	27,64		
3	3	55,00		
4	3	29,82		
5	2	40,56		
6	1	23,36		
7	2	29,02		
8	0	20,19		
9	0	18,68		
10	0	12,33		
11	1	10,42		

* Pearson Product Moment Correlation

Somit ist davon auszugehen, dass bei den LSL-Hennen ein Zusammenhang zwischen den Befreiungsversuchen und der Kortikosteronkonzentration im Blutplasma zum ZP 1 besteht. Es scheint, als ob die Hennen parallel zur steigenden Zahl der Befreiungsversuche, auch einen entsprechenden Anstieg der Kortikosteronkonzentration im Blutplasma erfahren. Dies bedeutet wiederum, dass sich die durchgeführte Stressmaßnahme bei wehrhafteren Hennen intensivierte. Dennoch scheint dieser Rückschluss nicht für die LB-Hybridlinie zu gelten.

4.2 Stress-Analyse mittels quantitativer Untersuchung von spezifischen Parametern im Blutplasma

4.2.1 Die Konzentration von Kortikosteron bei Legehennen der LB-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen

Die Messung des Hormons Kortikosteron hatte, die gesamte Stress-geprägte Untersuchung betrachtend, einen hohen Stellenwert für eine erfolgreiche Abgrenzung (mittels Fixation) vom „Normalzustand“. Denn aufgrund der äußerst stressreaktiven Eigenschaften von Kortikosteron war vorgesehen, mit diesem Hormon eine Aussage nicht nur zum bloßen Funktionieren der Fixation als Stressor zu erhalten, sondern dadurch auch, verglichen mit anderen bekannten Stressoren, eine Aussage zur Stress-Qualität bzw. -Intensität der hier gewählten Maßnahme geben zu können. Der eingesetzte kompetitive ELISA-Test erzielte Ergebnisse im Konzentrationsbereich von 2,31 nmol/l (ZP 1) und 67,81 nmol/l (ZP 4). Dieser niedrigste und höchste Wert wurde jeweils an einem LSL-Kontrolltier (nicht gestresst durch Flügelkreuzen) beobachtet. Zu welchen Ergebnissen die statistische Auswertung geführt hat, wird in den nächsten Punkten ausführlich erläutert. Zunächst wird die Hybridlinie LB genauer betrachtet, im Anschluss werden die gleichen Punkte bei der Hybridlinie LSL besprochen und abschließend wird ein genauer Blick auf die Unterschiede zwischen den beiden Hybridlinien geworfen.

4.2.1.1 Vergleich der mittleren Kortikosteronwerte in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere

Hilfreich war es hier im ersten Schritt die beiden LB-Gruppen (Kontrolle und Stressor) einzeln für sich zu betrachten. Dies bedeutet, dass die jeweilige Gruppe, und innerhalb dieser Gruppe jedes einzelne Tier hinsichtlich des zeitlichen Kortikosteron-Konzentrationsverlaufes über den bekannten Beobachtungszeitraum (0-135 min) statistisch ausgewertet wurde. Die Auswertung der LB-Kontroll-Gruppe erfolgte mit

Ergebnisse

einer One-Way Repeated Measures ANOVA. Da p den Wert 0,006 erhielt und somit von einer Signifikanz auszugehen war, lokalisierte ein zusätzlicher Test nach der Holm-Sidak Methode, diese entspricht einem Vergleich der Zeitpunkte gegen eine Kontrolle (hier ZP 0), diese Signifikanzen. Ergebnisse sind in Tabelle 4.4 vermerkt.

Tab. 4.4: Mittlere (\pm SE) Kortikosteronkonzentration im Blutplasma von LB-Kontrollhennen im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

Kortikosteron-konzentration [nmol/l] zum ZP 0*	Kortikosteron-konzentration [nmol/l] zu den ZP 1-5*	Holm-Sidak Methode	p**	Signifikanz des Unterschiedes
13,68 \pm 2,814 (n=12)	ZP 1: 7,44 \pm 0,877 (n=12)	ZP 0 vs. ZP1	0,007	ja
13,68 \pm 2,814 (n=12)	ZP 2: 9,25 \pm 1,273 (n=11)	ZP 0 vs. ZP 2	0,090	nein
13,68 \pm 2,814 (n=12)	ZP 3: 9,56 \pm 1,157 (n=11)	ZP 0 vs. ZP 3	0,099	nein
13,68 \pm 2,814 (n=12)	ZP 4: 7,99 \pm 0,983 (n=12)	ZP 0 vs. ZP 4	0,013	ja
13,68 \pm 2,814 (n=12)	ZP 5: 14,85 \pm 3,001 (n=12)	ZP 0 vs. ZP 5	0,601	nein

* 0=0 min (vor dem Stress)
1=30 min (Stress-Ende)
2-5=45, 75, 105, 135 min (nach der Stresseinleitung)

** One-Way Repeated Measures ANOVA

Bei der Auswertung der LB-Stress-Gruppe kam ebenfalls eine One-Way Repeated Measures ANOVA zu tragen. Für p ergab sich ein Wert <0,001. Der nachgestellte Test nach der Holm-Sidak Methode brachte genauere Ergebnisse (s. Tab. 4.5).

Ergebnisse

Tab. 4.5: Mittlere (\pm SE) Kortikosteronkonzentration im Blutplasma von LB-Stresshennen im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

Kortikosteron-konzentration [nmol/l] zum ZP 0*	Kortikosteron-konzentration [nmol/l] zu den ZP 1-5*	Holm-Sidak Methode	p**	Signifikanz des Unterschiedes
13,48 \pm 1,748 (n=13)	ZP 1: 25,64 \pm 4,197 (n=13)	ZP 0 vs. ZP1	<0,001	ja
13,48 \pm 1,748 (n=13)	ZP 2: 11,32 \pm 1,017 (n=13)	ZP 0 vs. ZP 2	0,439	nein
13,48 \pm 1,748 (n=13)	ZP 3: 9,29 \pm 1,119 (n=12)	ZP 0 vs. ZP 3	0,265	nein
13,48 \pm 1,748 (n=13)	ZP 4: 10,46 \pm 1,387 (n=13)	ZP 0 vs. ZP 4	0,280	nein
13,48 \pm 1,748 (n=13)	ZP 5: 14,61 \pm 2,578 (n=12)	ZP 0 vs. ZP 5	0,459	nein

* 0=0 min (vor dem Stress)
1=30 min (Stress-Ende)
2-5=45, 75, 105, 135 min (nach der Stresseinleitung)

** One-Way Repeated Measures ANOVA

Eine Zusammenfassung aller im Beobachtungszeitraum (0-135 min) an den Stresshennen und den Kontrollhennen der LB-Linie erfaßten mittleren Kortikosteronwerte zeigt Tabelle 4.6. Das der Tabelle nachfolgende Diagramm (s. Abb. 4.3) soll diese Ergebnisse noch einmal graphisch darstellen.

Tab. 4.6: Mittlere (\pm SE) Kortikosteronkonzentration im Blutplasma von LB-Hennen vor, während und nach der Stressinduktion durch Fixation im Vergleich zu zeitgleichen Werten bei Kontrolltieren

ZP	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LB-Kontroll-Gruppe	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LB-Stress-Gruppe
0 (=0 min)	13,68 \pm 2,814 (n=12)	13,48 \pm 1,748 (n=13)
1 (=30 min)	7,44 \pm 0,877 (n=12)* ¹ p=0,007	25,64 \pm 4,197 (n=13)* ^{1,2} p<0,001
2 (=45 min)	9,25 \pm 1,273 (n=11)	11,32 \pm 1,017 (n=13)
3 (=75 min)	9,56 \pm 1,157 (n=11)	9,29 \pm 1,119 (n=12)
4 (=105 min)	7,99 \pm 0,988 (n=12)* ¹ p=0,013	10,46 \pm 1,387 (n=13)
5 (=135 min)	14,85 \pm 3,001 (n=12)	14,61 \pm 2,758 (n=12)

*¹ signifikant niedriger bzw. höher als der zugehörige 0-Wert

*² signifikant erhöht im Vergleich zum zeitgleichen Kontrollwert

Ergebnisse

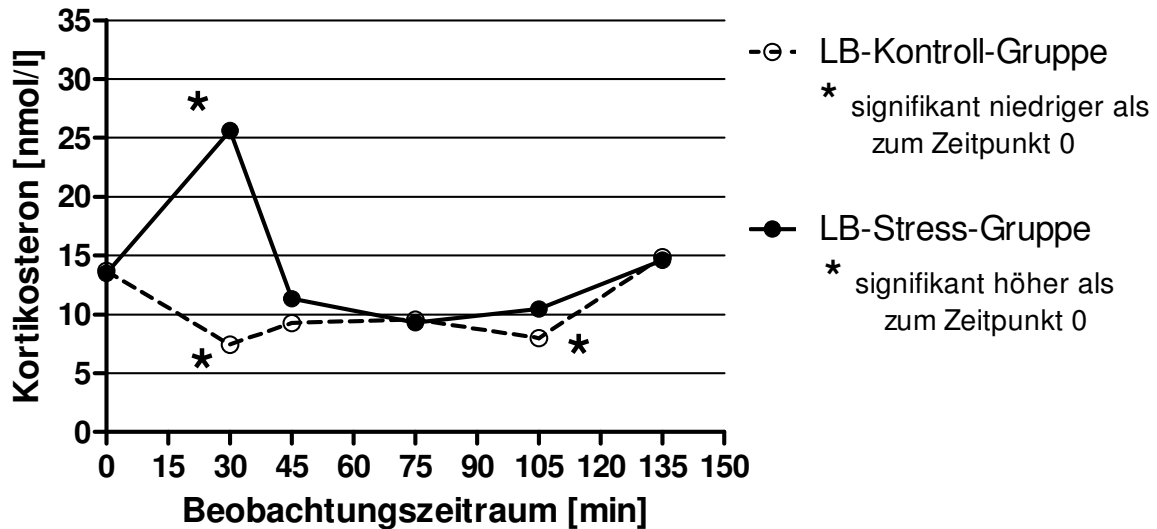


Abb. 4.3: Mittlerer zeitabhängiger Verlauf der Kortikosteronkonzentration im Blutplasma von „gestressten“ (0-30 min) und nicht „gestressten“ (0-135 min) LB-Hennen

4.2.1.2 Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Kortikosteronkonzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1

Innerhalb der LB-Legelinie erfolgte erst mit dem Beginn der Blutentnahme die Aufteilung in Kontroll- und Stresstiere, und zwar nach der ersten Blutentnahme (ZP 0). Folglich wurden die Tiere bis einschließlich der ersten Blutentnahme völlig identisch behandelt und es konnte somit vorausgesetzt werden, dass es bis zu dieser Aufteilung der Tiere keine wesentlichen Unterschiede im Kortikosteron-Spiegel geben sollte. Aufgrund dieser Annahme wurde darauf verzichtet, die Variabilität der Kortikosteronkonzentration zum ZP 0 statistisch auszuwerten. Andererseits erwies sich die Auswertung dieses Zeitpunktes in der Gegenüberstellung der beiden Legelinien LB und LSL als interessant. Dieser Aspekt wird allerdings erst später im Detail besprochen werden.

Hier, beim Vergleich innerhalb der LB-Legelinie, also bezogen auf die Kontroll- und die Stress-Situation, gab die statistische Auswertung von ZP 1 (=30 min) interessante Aufschlüsse. ZP 1 beschreibt die Blutprobe, die entnommen wurde, direkt nachdem die körperlich fixierten Hennen aus ihrer 30 min andauernden Stress-

Ergebnisse

Situation befreit wurden. Die Kontrolltiere hingegen befanden sich bis zur Blutentnahme zum ZP 1 in einer der abgedunkelten Kartonbox. Offensichtlich führte diese Abgeschiedenheit der Kontrolltiere zu einer am signifikant niedrigen Kortikosteronspiegel (zum ZP 1 und 4) erkennbaren besonderen Beruhigung. Erwartet wurde, dass bei den fixierten Tieren zu diesem ZP 1, also nach 30-minütigem Stress, eine vermehrte Ausschüttung von Kortikosteron stattgefunden hatte. Die folgende Tabelle (Tab. 4.7) zeigt, dass dies statistisch abgesichert auch stattgefunden hat.

Tab. 4.7: Vergleich der mittleren (\pm SE) Kortikosteronkonzentration in Blutplasma Proben, die bei Kontrolltieren und bei „gestressten“ LB-Tieren zum ZP 1 (=30 min) entnommen wurden

ZP	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LB-Kontroll-Gruppe	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LB-Stress-Gruppe	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	7,44 \pm 0,877 (n=12) VK=40,9 %	25,64 \pm 4,197 (n=13) VK=59,0 %	<0,001	ja

* Mann-Whitney Test

Wie man aus der Tabelle entnehmen kann, gab es hier tatsächlich einen signifikanten Kortikosteron-Konzentrationsunterschied zwischen der LB-Kontroll- und Stress-Gruppe. Die Tiere aus der Stressgruppe zeigten im Mittel eine um den Faktor 3,75 höhere Kortikosteronkonzentration als die Tiere der Kontrollgruppe. Demnach kann man davon ausgehen, dass diese höheren Werte wie erwartet die körperliche Immobilisierung der Hennen als Stresssituation belegen. Dennoch zeigte sich, dass die Kortikosteronkonzentration im Blutplasma bei der LB-Stress-Gruppe nicht im direkten Zusammenhang mit der Anzahl der Befreiungsversuche steht (s. Tab. 4.2). Das nächste Diagramm soll diesen Befund noch verdeutlichen. So zeigt Abbildung 4.4 den mittleren Kortikosterongehalt (aus Tab. 4.7) der jeweiligen Gruppe zu diesem ZP 1 als Säulendiagramm.

Ergebnisse

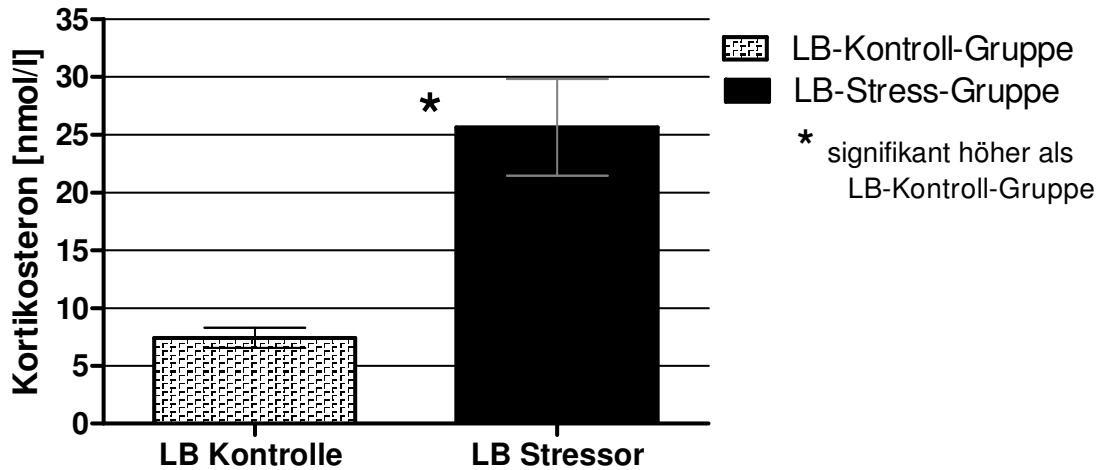


Abb. 4.4: Mittlere Kortikosteronkonzentration in der LB-Kontroll- und der LB-Stress-Gruppe zum ZP 1 als Säulendiagramm (mit Angabe der Signifikanz und der Standardfehler)

4.2.1.3 Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Kortikosteronkonzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zu den ZP 2-5

Der signifikante Unterschied in der mittleren Kortikosteronkonzentration zwischen der LB-Kontroll- und Stress-Gruppe zum ZP 1 war zum ZP 2 (also 15 min nach Stressende) schon nicht mehr vorhanden. Die Konzentration an Kortikosteron hatte sich in beiden Gruppen wieder angeglichen. Im t-Test ergab sich für p ein Wert von $>0,05$, konkret $p=0,211$. Die LB-Kontroll-Gruppe zeigte einen Mittelwert von $9,25 \pm 1,273$ nmol/l ($n=11$), die LB-Stress-Gruppe einen Mittelwert von $11,32 \pm 1,017$ nmol/l ($n=13$). Offensichtlich erholen sich fixierte Hennen, was die dadurch stimulierte Kortikosteron-Ausschüttung betrifft, relativ rasch von dieser Stress-Situation.

Insofern konnte davon ausgegangen werden, dass auch der Kortikosteron-Konzentrationsvergleich zu den weiteren nachfolgenden Zeitpunkten die bereits eingetretene Erholung vom Stress bestätigt. Konkretes hierzu zeigt Tabelle 4.8.

Ergebnisse

Tab. 4.8: Vergleich der mittleren (\pm SE) Poststress-Kortikosteronwerte mit denen der Kontrollgruppe zu den ZP 2-5

ZP	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LB-Kontroll-Gruppe	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LB-Stress-Gruppe	p*	Signifikanz des Unterschiedes
2	9,25 \pm 1,273 (n=11)	11,32 \pm 1,017 (n=13)	0,211	nein
3	9,56 \pm 1,157 (n=11)	9,29 \pm 1,119 (n=12)	0,866	nein
4	7,99 \pm 0,983 (n=12)	10,46 \pm 1,387 (n=13)	0,165	nein
5	14,85 \pm 3,001 (n=12)	14,61 \pm 2,758 (n=12)	0,952	nein

* t-Test

4.2.2 Die Konzentration von Kortikosteron bei Legehennen der LSL-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen

4.2.2.1 Vergleich der mittleren Kortikosteronwerte in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere

Eine Überprüfung des Kortikosteron-Konzentrationsverlaufes innerhalb der beiden Gruppen im bekannten Beobachtungszeitraum brachte hierzu folgende Ergebnisse. Die Kortikosteronwerte der LSL-Kontroll-Gruppe, analysiert über eine One-Way Repeated Measures ANOVA, zeigten in ihrem zeitlichen Konzentrationsverlauf signifikante Unterschiede, da $p=0,029$ war. Ein Nachtest (Holm-Sidak Methode) lokalisierte die Signifikanz, die in folgender Tabelle (s. Tab. 4.9) vermerkt wurde.

Ergebnisse

Tab. 4.9: Mittlere (\pm SE) Kortikosteronkonzentration im Blutplasma von LSL-Kontrollhennen im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

Kortikosteron-konzentration [nmol/l] zum ZP 0*	Kortikosteron-konzentration [nmol/l] zu den ZP 1-5*	Holm-Sidak Methode	p**	Signifikanz des Unterschiedes
8,97 \pm 1,091 (n=14)	ZP 1: 7,40 \pm 1,199 (n=11)	ZP 0 vs. ZP1	0,412	nein
8,97 \pm 1,091 (n=14)	ZP 2: 10,84 \pm 1,362 (n=11)	ZP 0 vs. ZP 2	0,486	nein
8,97 \pm 1,091 (n=14)	ZP 3: 11,55 \pm 1,863 (n=10)	ZP 0 vs. ZP 3	0,319	nein
8,97 \pm 1,091 (n=14)	ZP 4: 11,42 \pm 1,462 (n=10)	ZP 0 vs. ZP 4	0,345	nein
8,97 \pm 1,091 (n=14)	ZP 5: 15,23 \pm 2,395 (n=11)	ZP 0 vs. ZP 5	0,008	ja

* 0=0 min (vor dem Stress)
1=30 min (Stress-Ende)
2-5=45, 75, 105, 135 min (nach der Stresseinleitung)

* One-Way Repeated Measures ANOVA

Ebenfalls mit einer One-Way Repeated Measures ANOVA wurde die LSL-Stress-Gruppe getestet. p erreichte einen Wert $<0,001$. Dies veranlasste einen Test nach der Holm-Sidak Methode (s. Tab. 4.10).

Tab. 4.10: Mittlere (\pm SE) Kortikosteronkonzentration im Blutplasma von LSL-Stresshennen im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

Kortikosteron-konzentration [nmol/l] zum ZP 0*	Kortikosteron-konzentration [nmol/l] zu den ZP 1-5*	Holm-Sidak Methode	p**	Signifikanz des Unterschiedes
9,32 \pm 0,769 (n=12)	ZP 1: 27,52 \pm 3,898 (n=11)	ZP 0 vs. ZP1	$<0,001$	ja
9,32 \pm 0,769 (n=12)	ZP 2: 17,08 \pm 1,997 (n=12)	ZP 0 vs. ZP 2	0,011	ja
9,32 \pm 0,769 (n=12)	ZP 3: 15,68 \pm 1,248 (n=12)	ZP 0 vs. ZP 3	0,034	ja
9,32 \pm 0,769 (n=12)	ZP 4: 13,45 \pm 1,294 (n=11)	ZP 0 vs. ZP 4	0,150	nein
9,32 \pm 0,769 (n=12)	ZP 5: 19,32 \pm 3,691 (n=9)	ZP 0 vs. ZP 5	0,002	ja

* 0=0 min (vor dem Stress)
1=30 min (Stress-Ende)
2-5=45, 75, 105, 135 min (nach der Stresseinleitung)

* One-Way Repeated Measures ANOVA

Ergebnisse

Zusammenfassend zeigt die Tabelle 4.11 die errechneten Mittelwerte im Vergleich der LSL-Kontroll-Gruppe und LSL-Stress-Gruppe zu allen Zeitpunkten, während die Abbildung 4.5 diese Ergebnisse graphisch darstellt.

Tab. 4.11: Mittlere (\pm SE) Kortikosteronkonzentration im Blutplasma von LSL-Hennen vor, während und nach der Stressinduktion durch Fixation im Vergleich zu zeitgleichen Werten bei Kontrolltieren

ZP	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LSL-Kontroll-Gruppe	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LSL-Stress-Gruppe
0 (=0 min)	8,97 \pm 1,091 (n=14)	9,32 \pm 0,769 (n=12)
1 (=30 min)	7,40 \pm 1,199 (n=11)	27,52 \pm 3,898 (n=11) ^{*1,2} p<0,001
2 (=45 min)	10,84 \pm 1,362 (n=11)	17,08 \pm 1,997 (n=12) ^{*1,2} p=0,011 bzw. p=0,019
3 (=75 min)	11,55 \pm 1,863 (n=10)	15,68 \pm 1,248 (n=12) ^{*1} p=0,034
4 (=105 min)	11,42 \pm 1,462 (n=10)	13,45 \pm 1,294 (n=11)
5 (=135 min)	15,23 \pm 2,395 (n=11) ^{*1} p=0,008	19,32 \pm 3,691 (n=9) ^{*1} p=0,002

*1 signifikant höher als der zugehörige 0-Wert

*2 signifikant höher im Vergleich zum zeitgleichen Kontrollwert

Ergebnisse

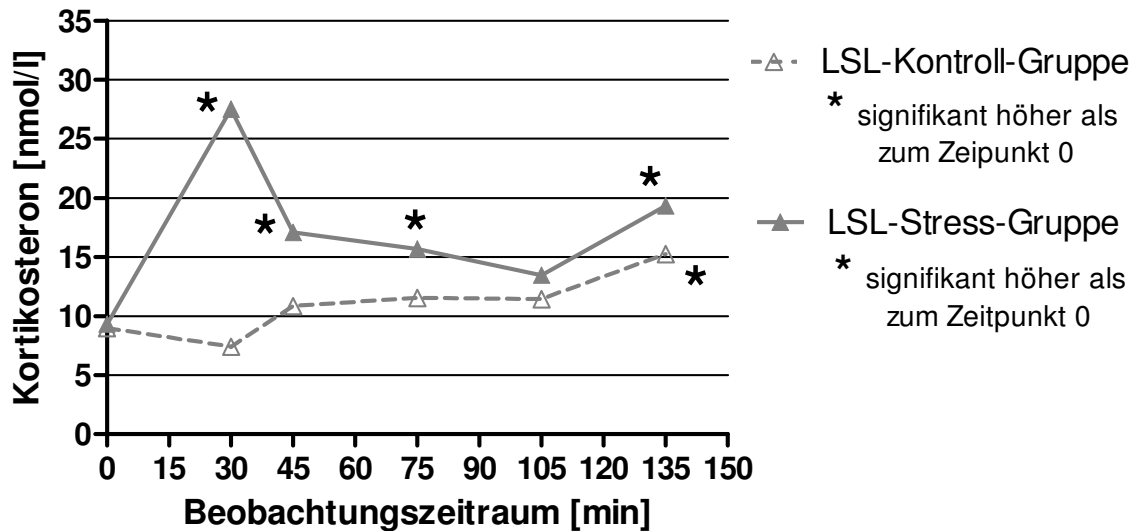


Abb. 4.5: Mittlerer zeitabhängiger Verlauf der Kortikosteronkonzentration im Blutplasma von „gestressten“ (0-30 min) und nicht „gestressten“ (0-135 min) LSL-Hennen

4.2.2.2 Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Kortikosteronkonzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1

Im nächsten Schritt sollen die LSL-Kontroll- und Stress-Gruppe miteinander verglichen werden. Da auch innerhalb der gesamten LSL-Gruppe zum ZP 0 alle Tiere eine identische Ausgangsbasis hatten, wurde darauf verzichtet die Variabilität der Kortikosteronkonzentration zu diesem ZP 0 statistisch auszuwerten. Erst zum ZP 1 kam der Mann-Whitney Rank Sum Test zum Einsatz. Wie aus Tabelle 4.12 zu entnehmen ist, gab es einen signifikanten Kortikosteron-Konzentrationsunterschied zwischen der LSL-Kontroll- und- Stress-Gruppe ($p < 0,001$).

Ergebnisse

Tab. 4.12: Vergleich der mittleren (\pm SE) Kortikosteronkonzentration in Blutplasma Proben, die bei Kontrolltieren und bei „gestressten“ LSL-Tieren zum ZP 1 (=30 min) entnommen wurden

ZP	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LSL-Kontroll-Gruppe	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LSL-Stress-Gruppe	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	7,40 \pm 1,199 (n=11) VK=53,8 %	27,52 \pm 3,898 (n=11) VK=47,0 %	<0,001	ja

* Mann-Whitney Test

Ganz ähnlich zur Auswertung der LB-Hennen zeigt sich hier das Ergebnis bezogen auf die LSL-Hennen (aus Tabelle 4.12). Die LSL-Stress-Gruppe hat einen um den Faktor 3,72 höheren Kortikosteron-Konzentrationsgehalt im Blutplasma, als die LSL-Kontroll-Gruppe. Folglich zeigt sich auch hier die Reaktion auf die körperliche Fixation.

Die nächste Abbildung (s. Abb. 4.6) bezieht sich auf den mittleren Kortikosterongehalt zum ZP 1 (aus Tab. 4.12), welcher sich hier in einem Säulendiagramm darstellt.

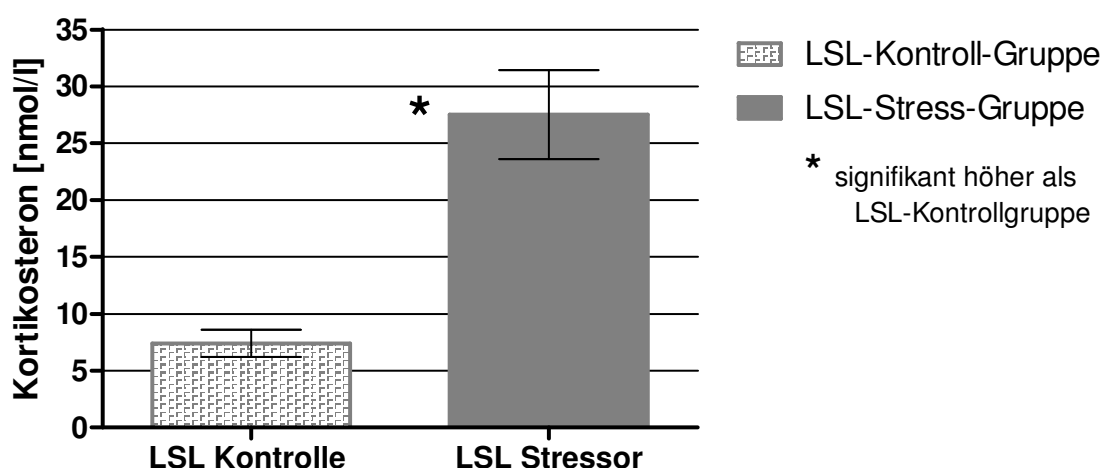


Abb. 4.6: Mittlere Kortikosteronkonzentration in der LSL-Kontroll- und der LSL-Stress-Gruppe zum ZP 1 als Säulendiagramm (mit Angabe der Signifikanz und der Standardfehler)

Ergebnisse

4.2.2.3 Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Kortikosteronkonzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und Stressgruppe zu den ZP 2-5

Mittels eines t-Tests der Kortikosteronkonzentration zum ZP 2 konnte gezeigt werden, dass der signifikante Unterschied zum ZP 1 sich noch bis zum ZP 2 fortsetzte. Der mittlere Kortikosteronspiegel der LSL-Stress-Gruppe war noch um den Faktor 1,6 erhöht ($p=0,019$) (s. Tab. 4.13). Diesen signifikanten Kortikosteronkonzentrationsunterschied zwischen der LSL-Kontroll- und der LSL-Stress-Gruppe veranschaulicht die Graphik in der Abbildung 4.7.

Tab. 4.13: Vergleich der mittleren (\pm SE) Poststress-Kortikosteronwerte mit denen der Kontrollgruppe zu den ZP 2-5

ZP	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LSL-Kontroll-Gruppe	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LSL-Stress-Gruppe	p	Signifikanz des Unterschiedes
2	10,84 \pm 1,362 (n=11) VK=41,6 %	17,08 \pm 1,997 (n=12) VK=40,5 %	0,019*	ja
3	11,55 \pm 1,863 (n=10)	15,68 \pm 1,248 (n=12)	0,073*	nein
4	11,42 \pm 1,462 (n=10)	13,45 \pm 1,294 (n=11)	0,310*	nein
5	15,23 \pm 2,395 (n=11)	19,32 \pm 3,691 (n=9)	0,403**	nein

* t-Test

** Mann-Whitney Test

Ergebnisse

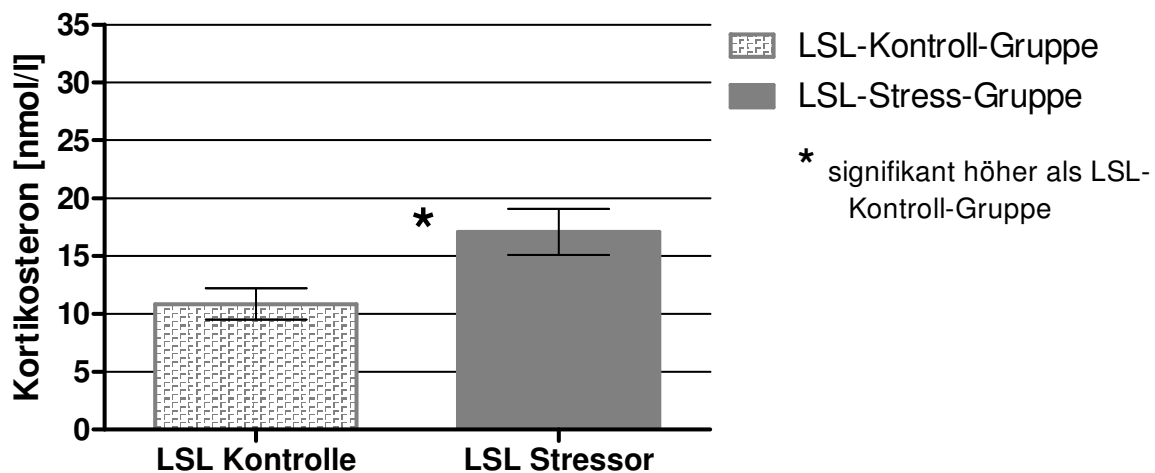


Abb. 4.7: Mittlere Kortikosteronkonzentration in der LSL-Kontroll- und der LSL-Stress-Gruppe zum ZP 2 als Säulendiagramm
(mit Angabe der Signifikanz und der Standardfehler)

Beim Vergleich zwischen LSL-Kontroll- und -Stress-Gruppe ab ZP 3 fällt auf (s. Tab. 4.13), dass sich ab diesem Zeitpunkt die LSL-Stress-Gruppe von der Stressmaßnahme soweit erholt hatte, und sich somit kein signifikanter Kortikosteron-Konzentrationsunterschied ermitteln ließ.

4.2.3 Vergleich der behandlungsidentlichen (Kontrolle bzw. Stressor) Kortikosteronkonzentration im Beobachtungszeitraum bei den Hybridlinien LB und LSL

Nachdem jeweils ein Vergleich der Kortikosteronkonzentration innerhalb der Legelinien und, jeweils bezogen auf die einzelne Linie, zwischen der Kontroll- und der Stressgruppe stattgefunden hat, bot es sich an, die beiden Legelinien behandlungsidentlich auch miteinander zu vergleichen. Daher wurden zum ZP 0 alle LB-Hennen (Kontroll- und Stresstiere) allen LSL-Hennen gegenübergestellt. Da es beim Kortikosteron-Konzentrationsvergleich zu diesem Zeitpunkt nur zwei Gruppen (LB- bzw. LSL-Linie) waren, kam auch hier wieder der t-Test zum Einsatz.

Ergebnisse

Bei den darauffolgenden Zeitpunkten wurden jeweils vier Gruppen miteinander verglichen. So teilte sich die gesamte Gruppe der LB-Hennen und der LSL-Hennen jeweils in eine Kontroll- und Stress-Gruppe auf. Um die Kortikosteronkonzentration dieser vier Gruppen statistisch miteinander vergleichen zu können, wurde eine ANOVA durchgeführt

Diese statistische Auswertung der beiden mittleren Kortikosteronkonzentrationen zum ZP 0 sollte zeigen, ob sich die beiden Hybridlegelinien in ihrem basalen Kortikosterongehalt unterscheiden. Wie aus folgender Tabelle (s. Tab. 4.14) zu entnehmen ist, ließ sich mittels des Mann-Whitney Rank Sum Testes kein signifikanter Unterschied belegen (s. Tab. 4.14 und Abb. 4.8).

Tab. 4.14: Vergleich der mittleren (\pm SE) Kortikosteronkonzentration bei LB- und LSL-Hennen zum ZP 0

ZP	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LB-Hennen	Kortikosteronkonzentration [nmol/l] LSL-Hennen	p*	Signifikanz des Unterschiedes
0	13,58 \pm 1,593 (n=25) VK=58,6 %	9,13 \pm 0,674 (n=26) VK=37,6 %	0,063	nein

* Mann-Whitney Test

Allerdings fällt auf, dass p mit 0,063 nur geringfügig größer ist als 0,05. Da die LB-Hennen zumindest zahlenmäßig im Mittel einen um den Faktor 1,49 höheren Kortikosterongehalt im Blutplasma aufweisen als die LSL-Hennen, ist es naheliegend, dass eine höhere Tierzahl in beiden Linien diesen tendenziellen Unterschied hätte signifikant werden lassen. Interessant ist auch, dass der Variationskoeffizient mit 37,6 % bei den LSL-Hennen deutlich geringer ausfällt als bei den LB-Hennen (VK=58,6 %). Offensichtlich ist die Gruppe der LSL-Hennen bezüglich des basalen („unbeeinflussten“) Kortikosteronspiegels homogener bzw. stabiler.

Ergebnisse

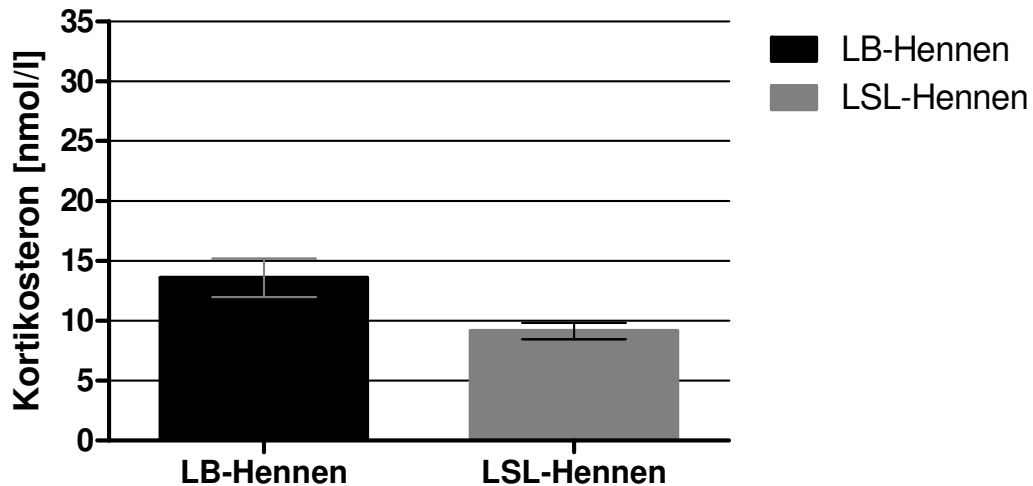


Abb. 4.8: Vergleich der mittleren Kortikosteronkonzentration bei LB- und LSL-Hennen zum ZP 0 als Säulendiagramm (mit Angabe der Standardfehler)

Wie oben bereits erwähnt, mussten zu den ZP 1-5 vier Gruppen (2 Behandlungen + 2 Hybridlinien) untereinander verglichen werden. Eine Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks brachte zum Vorschein, dass es zum ZP 1 signifikante Unterschiede zwischen den mittleren Kortikosteronspiegeln der vier Gruppen gab, denn p erhielt einen Wert von $<0,001$ (s. Tab. 4.15). Die Signifikanz wurde verursacht, wie ein zusätzlicher Test (Dunns Methode) zeigte, durch die Behandlung der Tiere (Kontrolle vs. Stressor) und nicht durch die Hybridlinien (LB vs. LSL) (s. Abb. 4.9).

Ergebnisse

Tab. 4.15: Vergleich der mittleren (\pm SE) Kortikosteronkonzentration bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ LB- bzw. LSL-Hennen zum ZP 1

Gruppe	Kortikosteronkonzentration [nmol/l]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
LB Kontrolle	7,44 \pm 0,877 (n=12) VK=40,9 %	<0,001	ja
LB Stressor	25,64 \pm 4,197 (n=13) VK=59,0 %		
LSL Kontrolle	7,40 \pm 1,199 (n=11) VK=53,8 %		
LSL Stressor	27,52 \pm 3,898 (n=11) VK=47,0 %		

* Kruskal-Wallis One-Way ANOVA

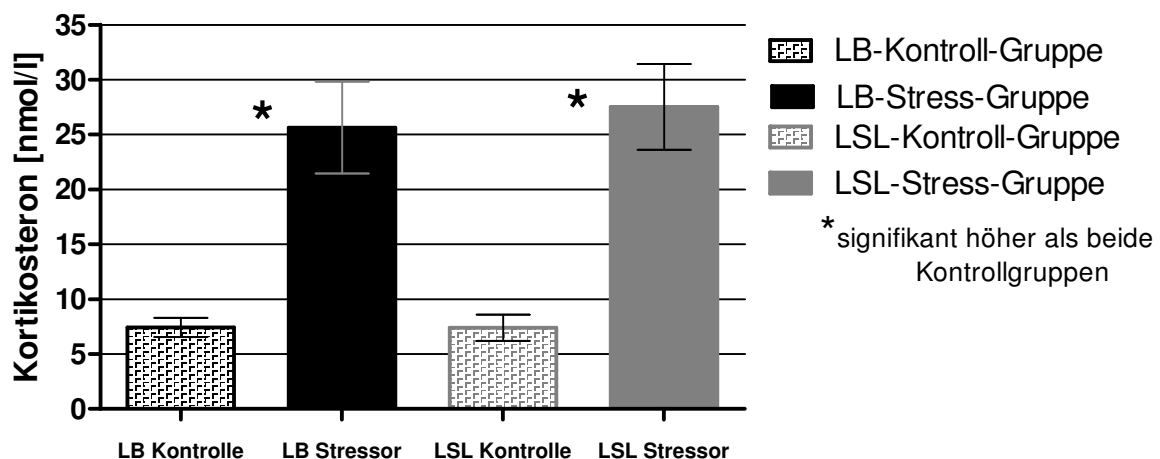


Abb. 4.9: Vergleich der behandlungs- (Kontrolle und Stressor) und der linien- (LB und LSL) spezifischen Kortikosteronspiegel zum ZP 1 als Säulendiagramm (mit Angabe der Standardfehler)

Auffällig hierbei ist, dass die behandlungsspezifische (Kontrolle und Stressor) mittlere Kortikosteronkonzentration zum ZP 1 bei beiden Linien fast identisch sind. Das heißt, dadurch wird verständlich, dass der Faktor des Stress-induzierten Kortikosteron-Konzentrationsanstieges bei beiden Linien mit 3,75 (LB) und 3,72 (LSL) ebenfalls nahezu identisch ist.

Ergebnisse

Die statistischen Auswertung (Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks) der vier Gruppen zum ZP 2 (=45 min) zeigte mit $p=0,006$ ebenfalls Signifikanzen auf (s. Tab. 4.16 und Abb. 4.10). Während die LB-Stress-Gruppe sich in ihrem Kortikosteronspiegel zu diesem Zeitpunkt bereits wieder dem basalen Kortikosteronspiegel deutlich genähert hat ($F=1,22$), zeigten die Tiere aus der LSL-Stress-Gruppe noch signifikant höhere Werte, als die LSL-Hennen aus der Kontrollgruppe ($F=1,58$). Die Überprüfung des mittleren Kortikosteronspiegels (mittels t-Test) bei den Stressgruppen ergab, dass sich die beiden Hybridlinien darin signifikant unterschieden ($p=0,015$). So hatte die LB-Hybridlinie bereits 15 min nach Beendigung der körperlichen Fixation (=Stressor) wieder eine zur basalen Kortikosteronkonzentration nicht signifikant unterschiedliche Kortikosteronkonzentration erreicht.

Tab. 4.16: Vergleich der mittleren (\pm SE) Kortikosteronkonzentration bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ LB- bzw. LSL-Hennen zum ZP 2

Gruppe	Kortikosteronkonzentration [nmol/l]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
LB Kontrolle	9,25 \pm 1,273 (n=11) VK=45,7 %	0,006	ja
LB Stressor	11,32 \pm 1,017 (n=13) VK=32,4 %		
LSL Kontrolle	10,84 \pm 1,362 (n=11) VK=41,7 %		
LSL Stressor	17,08 \pm 1,997 (n=12) VK=40,5 %		

* Kruskal-Wallis One-Way ANOVA

Ergebnisse

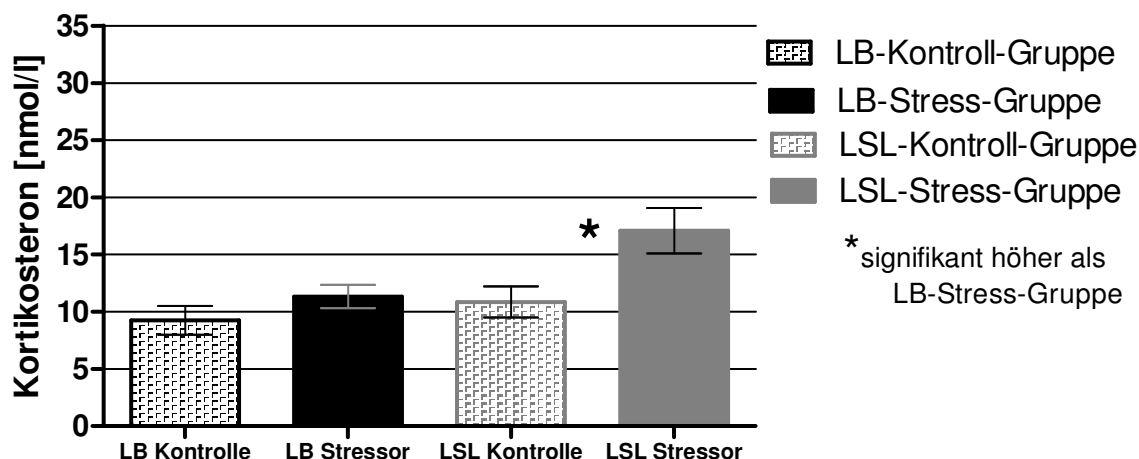


Abb. 4.10: Vergleich der behandlungs- (Kontrolle und Stressor) und der linien- (LB und LSL) spezifischen Kortikosteronspiegel zum ZP 2 als Säulendiagramm (mit Angabe der Standardfehler)

Der Vergleich der vier Gruppen zum ZP 3 (=75 min) mithilfe einer durchgeführten One-Way ANOVA ergab, wie schon zu den ZP 1 und 2 eine weitere Signifikanz ($p=0,004$). Dies bedeutet, dass sich die LSL-Tiere nach wie vor nicht vollständig vom Immobilisierungsstress erholt hatten (s. auch Tab. 4.17). Bei dem Vergleich der beiden „gestressten“ Hühnerlinien über einen t-Test konnte nachvollzogen werden, dass der Unterschied noch immer signifikant war ($p<0,001$). Somit hatten die LSL-Stresstiere weiterhin höhere Kortikosteronwerte als Reaktion auf den Stressor (s. auch Abb. 4.11).

Ergebnisse

Tab. 4.17: Vergleich der mittleren (\pm SE) Kortikosteronkonzentration bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ LB- bzw. LSL-Hennen zum ZP 3

Gruppe	Kortikosteronkonzentration [nmol/l]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
LB Kontrolle	9,57 \pm 1,157 (n=11) VK=40,1 %	0,004	ja
LB Stressor	9,29 \pm 1,119 (n=12) VK=41,8 %		
LSL Kontrolle	11,55 \pm 1,863 (n=10) VK=51,0 %		
LSL Stressor	15,68 \pm 1,248 (n=12) VK=27,6 %		

* One-Way ANOVA

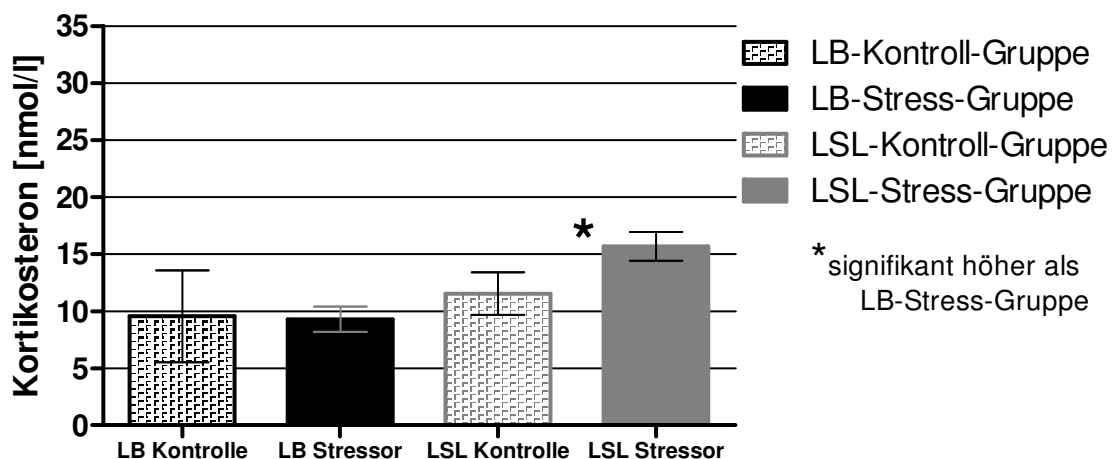


Abb. 4.11: Vergleich der behandlungs- (Kontrolle und Stressor) und der linien- (LB und LSL) spezifischen Kortikosteronspiegel zum ZP 3 als Säulendiagramm (mit Angabe der Standardfehler)

Zwar erbrachte eine One-Way ANOVA zum ZP 4 (=105 min) ein $p < 0,05$, aber dies bezog sich nicht auf den Kortikosteron-Konzentrationsunterschied zwischen der LB- und LSL-Stress-Gruppe, sondern auf den Kortikosteron-Konzentrationsunterschied zwischen LB-Kontrolle und LSL-Stressor (s. Tab. 4.18). Allerdings ist dieser Vergleich nicht sinnvoll. Wichtiger hingegen ist, dass zum ZP 4, also 75 min nach Stressende, auch die LSL-Hybridlinie zur basalen Kortikosteronkonzentration

Ergebnisse

zurückkehrte. Die folgende Abbildung (s. Abb. 4.12) demonstriert das für die vier Gruppen geltende Kortikosteronlevel.

Tab. 4.18: Vergleich der mittleren (\pm SE) Kortikosteronkonzentration bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ LB- bzw. LSL-Hennen zum ZP 4

Gruppe	Kortikosteronkonzentration [nmol/l]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
LB Kontrolle	7,99 \pm 0,983 (n=12)	0,037	ja
LB Stressor	10,46 \pm 1,387 (n=13)		
LSL Kontrolle	11,42 \pm 1,462 (n=10)		
LSL Stressor	13,47 \pm 1,294 (n=11)		

* One-Way ANOVA

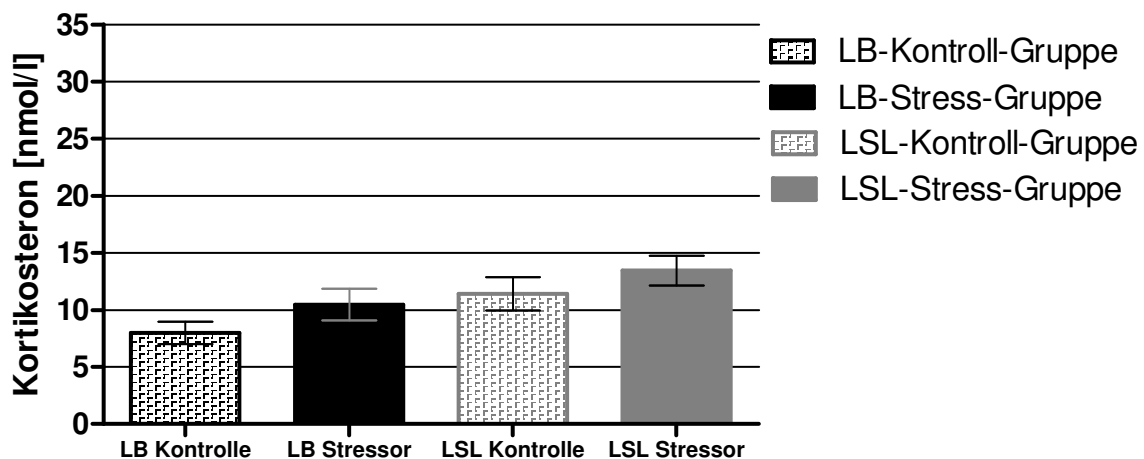


Abb. 4.12: Vergleich der behandlungs- (Kontrolle und Stressor) und der linien- (LB und LSL) spezifischen Kortikosteronspiegel zum ZP 4 als Säulendiagramm (mit Angabe der Standardfehler)

Zum ZP 5 erbrachte eine Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks zwischen den Kortikosteron-Konzentrationswerten der einzelnen Gruppen keine weiteren signifikanten Unterschiede ($p=0,654$). Die Konzentrationswerte aller vier Gruppen hatten sich einander weiter angeglichen (s. Abb. 4.13).

Ergebnisse

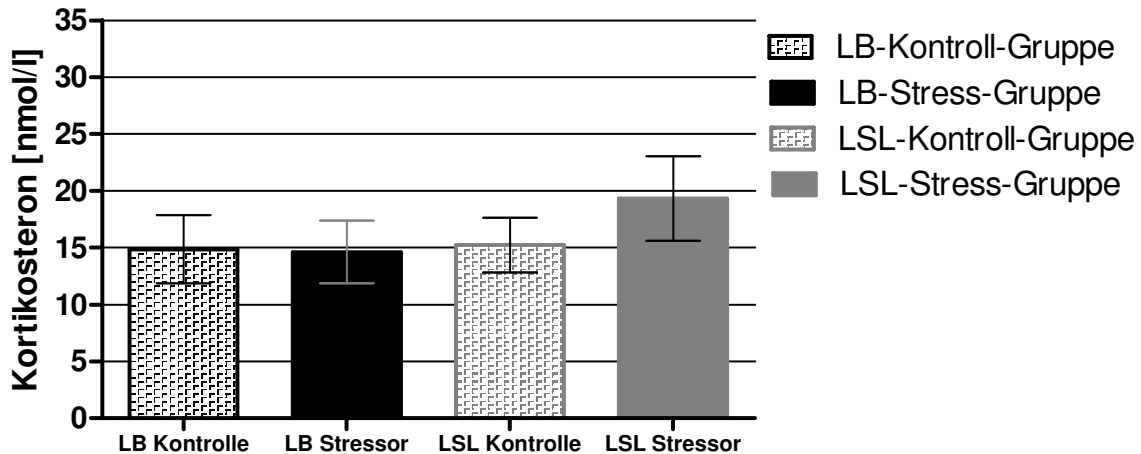


Abb. 4.13: Vergleich der behandlungs- (Kontrolle und Stressor) und der linien- (LB und LSL) spezifischen Kortikosteronspiegel zum ZP 5 als Säulendiagramm (mit Angabe der Standardfehler)

Die nachfolgende Tabelle samt Diagramm (s. Tab. 4.19 und Abb. 4.14) zeigt als Zusammenfassung den mittleren Kortikosterongehalt aller vier Behandlungsgruppen über den gesamten Beobachtungszeitraum (=6 Meßzeitpunkte). Sehr deutlich zu sehen ist der signifikante Kortikosteron-Konzentrationsunterschied bei Kontroll- und Stressorgruppen beider Linien zum ZP 1 (=30 min) unmittelbar nach dem Stressor. 15 min (ZP 2) nach Stressende kann man erkennen, dass bei den LB-Tieren die Kortikosteronkonzentration wieder deutlich zurück gefallen ist, wohingegen die LSL-Tiere bis einschließlich ZP 3 (=75 min) noch eindeutig erhöhte Werte aufweisen. Zu den ZP 4 und 5 (=105 und 135 min) liegen die Ergebnisse aller vier Tiergruppen relativ dicht beieinander. Allerdings kommt es bei allen Gruppen zum ZP 5 wieder zu einem leichten, nicht signifikanten Anstieg (um +33-86 %) der Kortikosteronkonzentration.

Ergebnisse

Tab. 4.19: Mittlere (\pm SE) Kortikosteronkonzentration im Blutplasma bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und LSL-Hybridlinie im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

ZP	Kortikosteron- konzentration [nmol/l] LB-Kontroll-Gruppe	Kortikosteron- konzentration [nmol/l] LB-Stress-Gruppe	Kortikosteron- konzentration [nmol/l] LSL-Kontroll-Gruppe	Kortikosteron- konzentration [nmol/l] LSL-Stress-Gruppe
0	13,68 \pm 2,814 (n=12)	13,48 \pm 1,748 (n=13)	8,97 \pm 1,091 (n=14)	9,32 \pm 0,769 (n=12)
1	7,44 \pm 0,877 (n=12)	25,64 \pm 4,197 (n=13)	7,40 \pm 1,199 (n=11)	27,52 \pm 3,898 (n=11)
2	9,25 \pm 1,273 (n=11)	11,32 \pm 1,017 (n=13)	10,84 \pm 1,362 (n=11)	17,08 \pm 1,997 (n=12)
3	9,56 \pm 1,157 (n=11)	9,29 \pm 1,119 (n=12)	11,55 \pm 1,863 (n=10)	15,68 \pm 1,248 (n=12)
4	7,99 \pm 0,983 (n=12)	10,46 \pm 1,387 (n=13)	11,42 \pm 1,462 (n=10)	13,45 \pm 1,294 (n=11)
5	14,85 \pm 3,001 (n=12)	14,61 \pm 2,578 (n=12)	15,23 \pm 2,395 (n=11)	19,32 \pm 3,691 (n=9)

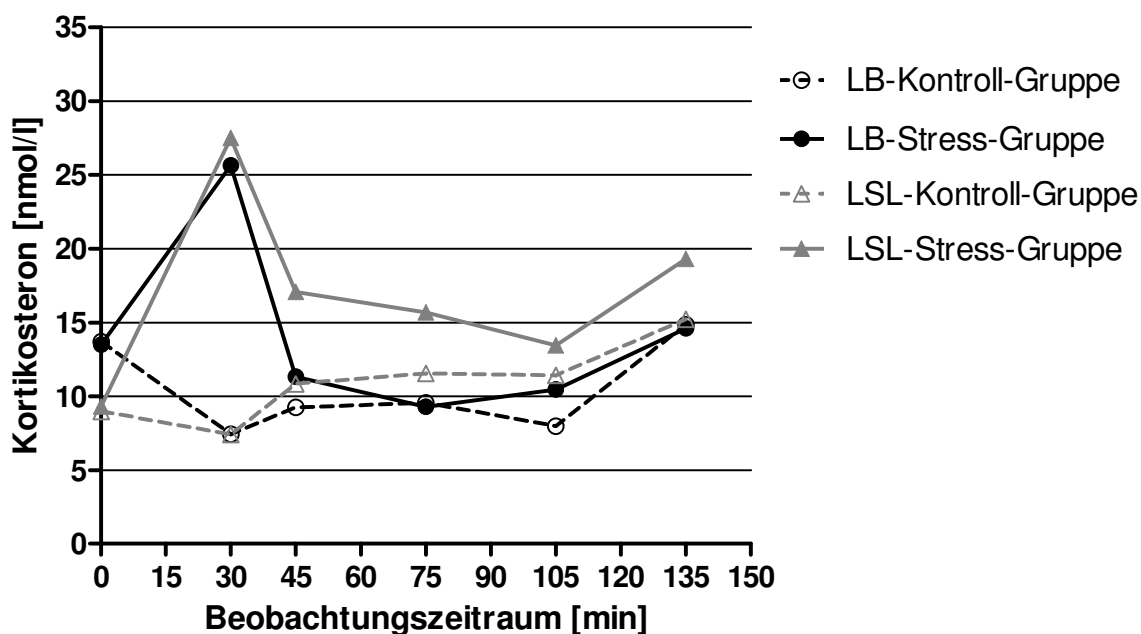


Abb. 4.14: Verlauf der mittleren Kortikosteronkonzentration über alle 6 Meßzeitpunkte bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und LSL-Hybridlinie

4.2.4 Die Konzentration von Glukose bei Legehennen der LB-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen

Die Untersuchung des Blutglukosegehaltes lieferte bei allen Hühnern Ergebnisse im Bereich von 9,50-14,70 mmol/l. Dabei wurde der niedrigste Wert 9,50 mmol/l bei einem LSL-Kontrolltier zum ZP 0 und zum ZP 1 gemessen. Der oberste Wert mit 14,70 mmol/l stammte ebenfalls von einem LSL-Tier, allerdings aus der Stressgruppe zum ZP 1.

4.2.4.1 Vergleich der mittleren Glukosewerte in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere

Um einen ersten Überblick zu erhalten, wurde jede Gruppe der LB-Legelinie separat betrachtet. Dies bedeutet, dass zum einen für die LB-Kontroll-Gruppe und zum anderen für die LB-Stress-Gruppe zu allen Zeitpunkten ein statistischer Vergleich der Glukosewerte vorgenommen wurde.

Unter Anwendung einer One-Way Repeated Measures ANOVA ergaben sich folgende Ergebnisse: Die Kontrollgruppe wies sehr einheitliche Werte auf, so dass sich ein p von 0,144 ergab. Die Stressgruppe erreichte mit $p < 0,001$ eine eindeutige Signifikanz. Um die signifikanten Glukose-Konzentrationsunterschiede konkret und zeitabhängig darstellen zu können, wurde in einem weiteren Schritt die Holm-Sidak Methode angewendet (s. Tab. 4.20).

Ergebnisse

Tab. 4.20: Mittlere (\pm SE) Glukosekonzentration im Blutplasma von LB-Stresshennen im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

Glukosekonzentration [mmol/l] zum ZP 0*	Glukosekonzentration [mmol/l] zu den ZP 1-5*	Holm-Sidak Methode	p**	Signifikanz des Unterschiedes
11,81 \pm 0,271 (n=11)	ZP 1: 12,88 \pm 0,199 (n=11)	ZP 0 vs. ZP1	<0,001	ja
11,81 \pm 0,271 (n=11)	ZP 2: 12,74 \pm 0,171 (n=10)	ZP 0 vs. ZP 2	<0,001	ja
11,81 \pm 0,271 (n=11)	ZP 3: 12,31 \pm 0,214 (n=10)	ZP 0 vs. ZP 3	0,009	ja
11,81 \pm 0,271 (n=11)	ZP 4: 12,01 \pm 0,287 (n=11)	ZP 0 vs. ZP 4	0,312	nein
11,81 \pm 0,271 (n=11)	ZP 5: 11,95 \pm 0,240 (n=10)	ZP 0 vs. ZP 5	0,357	nein

* 0=0 min (vor dem Stress)
1=30 min (Stress-Ende)
2-5=45, 75, 105, 135 min (nach der Stresseinleitung)

** One-Way Repeated Measures ANOVA

In der Abbildung 4.15 ist der teilweise signifikante mittlere Glukose-Konzentrationsverlauf bei den „gestressten“ LB-Hennen im Beobachtungszeitraum wiedergegeben. Hierbei kann man feststellen, dass die Glukosekonzentration zu allen Zeitpunkten höher lag, als zum ZP 0. Signifikant sind die Unterschiede allerdings nur bei den ZP 1 (+9 %), 2 (+8 %) und 3 (+4 %).

Zusammenfassend zeigt Tabelle 4.21 sämtliche mittlere Glukosewerte, die an den Stresshennen und den Kontrollhennen der LB-Linie im Beobachtungszeitraum (0-135 min) erfaßt werden konnten. Das der Tabelle nachfolgende Diagramm (s. Abb. 4.15) soll diese Ergebnisse noch einmal graphisch darstellen.

Ergebnisse

Tab. 4.21: Mittlere (\pm SE) Glukosekonzentration im Blutplasma von LB-Hennen vor, während und nach der Stressinduktion durch Fixation im Vergleich zu zeitgleichen Werten bei Kontrolltieren

ZP	Glukosekonzentration [mmol/l] LB-Kontroll-Gruppe	Glukosekonzentration [mmol/l] LB-Stress-Gruppe
0 (=0 min)	11,82 \pm 0,198 (n=10)	11,81 \pm 0,271 (n=11)
1 (=30 min)	11,99 \pm 0,170 (n=10)	12,88 \pm 0,199 (n=11) ^{*1,2} p<0,001 bzw. p=0,003
2 (=45 min)	12,11 \pm 0,190 (n=10)	12,74 \pm 0,171 (n=11) ^{*1,2} p<0,001 bzw. p=0,024
3 (=75 min)	12,06 \pm 0,163 (n=10)	12,31 \pm 0,214 (n=11) ^{*1} p=0,009
4 (=105 min)	12,00 \pm 0,136 (n=10)	12,01 \pm 0,287 (n=11)
5 (=135 min)	12,01 \pm 0,142 (n=10)	11,95 \pm 0,240 (n=10)

*1 signifikant höher als der zugehörige 0-Wert

*2 signifikant erhöht im Vergleich zum zeitgleichen Kontrollwert

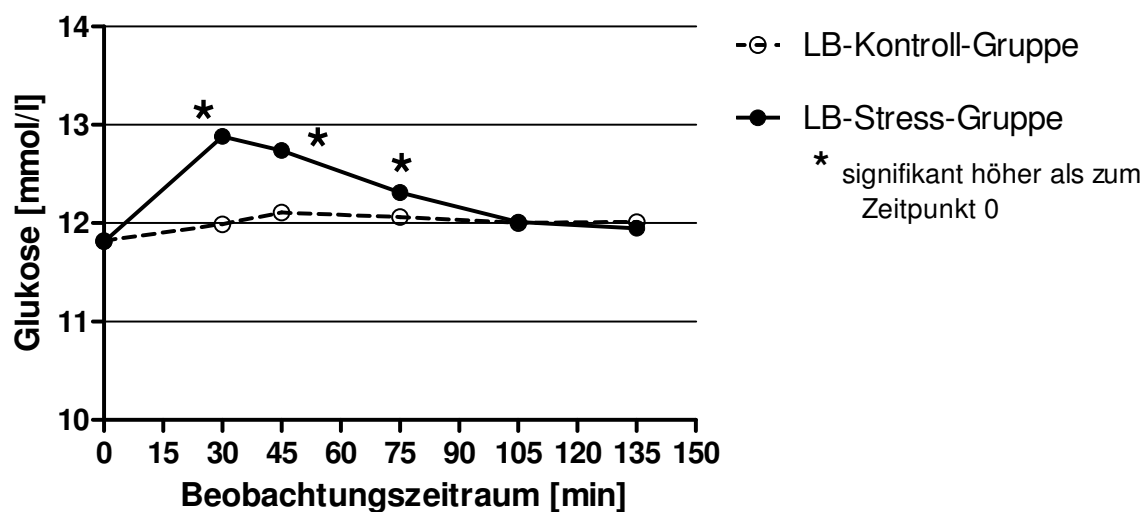


Abb. 4.15: Mittlerer zeitabhängiger Verlauf der Glukosekonzentration im Blutplasma von „gestressten“ (0-30 min) und nicht „gestressten“ (0-135 min) LB-Hennen

Ergebnisse

4.2.4.2 Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Glukosekonzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1

In Tabelle 4.22 sind jeweils die Mittelwerte der Blutglukosekonzentration direkt nach Beendigung der Fixationsmaßnahme wiedergegeben. Es ist hierbei zu erkennen, dass die Tiere aus der Stressgruppe einen höheren Glukosewert aufweisen. Ein t-Test sollte feststellen, ob der Unterschied auch signifikant war. Da sich hierbei ein p-Wert von 0,003 ergab (also $<0,05$) kann von einem signifikanten Ergebnis ausgegangen werden.

Tab. 4.22: Vergleich der mittleren (\pm SE) Glukosekonzentration in Blutplasma Proben, die bei Kontrolltieren und bei „gestressten“ LB-Tieren zum ZP 1 (=30 min) entnommen wurden

ZP	Glukosekonzentration [mmol/l] LB-Kontroll-Gruppe	Glukosekonzentration [mmol/l] LB-Stress-Gruppe	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	11,99 \pm 0,170 (n=10) VK=4,5%	12,88 \pm 0,199 (n=11) VK=5,1%	0,003	ja

* t-Test

Dieses Ergebnis zeigt deutlich, dass sich der Stressor auf den Blutglukosegehalt der Tiere auswirkte. Er stieg um 7 % an. Die Abbildung 4.16 gibt den mittleren Gehalt der Blutglukose zum ZP 1 als Säulendiagramm wieder.

Ergebnisse

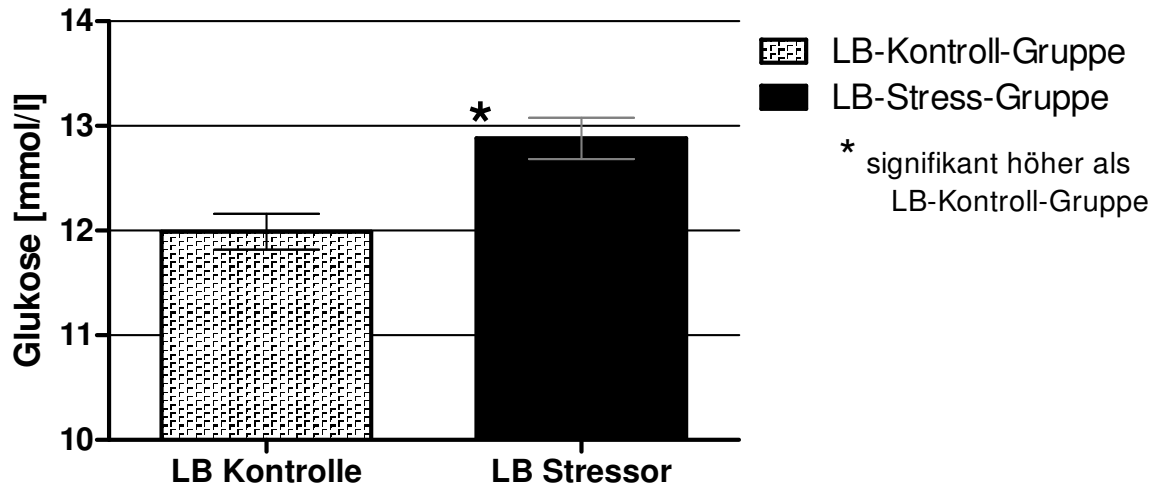


Abb. 4.16: Mittlere Glukosekonzentration in der LB-Kontroll- und der LB-Stress-Gruppe zum ZP 1 als Säulendiagramm
(mit Angabe der Signifikanz und der Standardfehler)

4.2.4.3 Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Glukosekonzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zu den ZP 2-5

Nachdem zum ZP 1 ein signifikanter Unterschied ausfindig gemacht werden konnte, wurde in Konsequenz verglichen, ob auch ZP 2 einen weiteren signifikanten Unterschied liefert. Der durchgeführte t-Test zwischen beiden Gruppen erbrachte einen p-Wert von 0,024 und war somit signifikant ($<0,05$). Tabelle 4.23 stellt die Zahlenwerte genauer dar. Abbildung 4.17 stellt den signifikanten Unterschied im Säulendiagramm graphisch dar.

Im folgenden Schritt wurden zu jedem einzelnen ZP 3-5 wieder t-Tests bzw. ein Mann-Whitney Rank Sum Test zwischen den beiden Gruppen LB-Kontrolle und LB-Stressor durchgeführt. Bei diesen Tests kam es allerdings zu keiner ausgewiesenen Signifikanz mehr (s. Tab. 4.23). Die beiden LB-Gruppen näherten sich in ihrem Blutglukosegehalt wieder an, bzw. erreichten die Tiere aus der Stress-Gruppe wieder das Level der Ausgangssituation. Besonders markant zeigt sich dies auch in Abbildung 4.17.

Ergebnisse

Tab. 4.23: Vergleich der mittleren (\pm SE) Poststress-Glukosewerte mit denen der Kontrollgruppe zu den ZP 2-5

ZP	Glukosekonzentration [mmol/l] LB-Kontroll-Gruppe	Glukosekonzentration [mmol/l] LB-Stress-Gruppe	p	Signifikanz des Unterschiedes
2	12,11 \pm 0,190 (n=10) VK=5,0 %	12,74 \pm 0,171 (n=11) VK=4,2 %	0,024*	ja
3	12,06 \pm 0,163 (n=10)	12,31 \pm 0,214 (n=10)	0,366*	nein
4	12,00 \pm 0,136 (n=10)	12,01 \pm 0,287 (n=11)	0,916**	nein
5	12,01 \pm 0,142 (n=10)	11,95 \pm 0,240 (n=10)	0,832*	nein

* t-Test

** Mann-Whitney Test

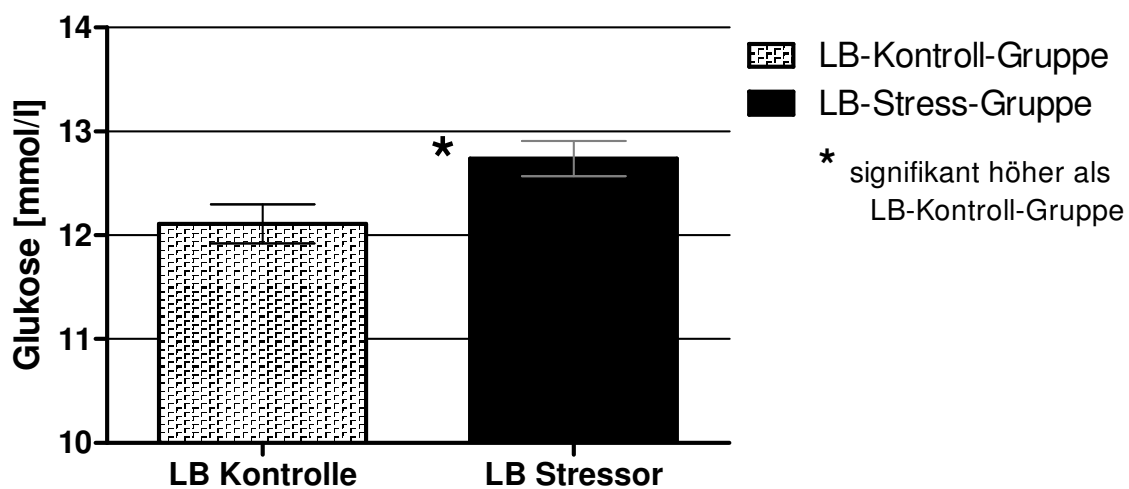


Abb. 4.17: Mittlere Glukosekonzentration in der LB-Kontroll- und der LB-Stress-Gruppe zum ZP 2 als Säulendiagramm (mit Angabe der Signifikanz und der Standardfehler)

4.2.5 Die Konzentration von Glukose bei Legehennen der LSL-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen

4.2.5.1 Vergleich der mittleren Glukosewerte in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere

Auch bei der Gruppe der LSL-Hennen wurde die Kontroll- und Stressgruppe jeweils für sich ausgewertet. Als erstes Resultat fällt auf, dass sich der Blutglukosegehalt der Kontrollgruppe innerhalb des Beobachtungszeitraumes signifikant änderte. Eine One-Way Repeated Measures ANOVA berechnete für p einen Wert von 0,027. Analog verhält es sich bei der LSL-Stress-Gruppe. Auch hier wurde mit $p < 0,001$ ein signifikanter Wert ermittelt. Beide Ergebnisse werden durch die folgenden Tabellen (s. Tab.4.24 und 4.25) ausführlich verdeutlicht. Aufgrund der Bedingungen wurde hier wieder mit der Holm-Sidak Methode vorgegangen. Die Abbildung 4.18 demonstriert den Glukose-Konzentrationsverlauf beider Gruppen im Beobachtungszeitraum.

Tab. 4.24: Mittlere (\pm SE) Glukosekonzentration im Blutplasma von LSL-Kontrollhennen im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

Glukosekonzentration [mmol/l] zum ZP 0*	Glukosekonzentration [mmol/l] zu den ZP 1-5*	Holm-Sidak Methode	p**	Signifikanz des Unterschiedes
11,78 \pm 0,319 (n=14)	ZP 1: 12,09 \pm 0,370 (n=12)	ZP 0 vs. ZP1	0,013	ja
11,78 \pm 0,319 (n=14)	ZP 2: 12,12 \pm 0,289 (n=12)	ZP 0 vs. ZP 2	0,010	ja
11,78 \pm 0,319 (n=14)	ZP 3: 12,01 \pm 0,360 (n=11)	ZP 0 vs. ZP 3	0,017	ja
11,78 \pm 0,319 (n=14)	ZP 4: 11,79 \pm 0,353 (n=11)	ZP 0 vs. ZP 4	0,050	nein
11,78 \pm 0,319 (n=14)	ZP 5: 12,08 \pm 0,304 (n=11)	ZP 0 vs. ZP 5	0,025	ja

* 0=0 min (vor dem Stress)
1=30 min (Stress-Ende)
2-5=45, 75, 105, 135 min (nach der Stresseinleitung)

** One-Way Repeated Measures ANOVA

Ergebnisse

Tab. 4.25: Mittlere (\pm SE) Glukosenkonzentration im Blutplasma von LSL-Stresshennen im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

Glukosekonzentration [mmol/l] zum ZP 0*	Glukosekonzentration [mmol/l] zu den ZP 1-5*	Holm-Sidak Methode	p**	Signifikanz des Unterschiedes
11,38 \pm 0,205 (n=12)	ZP 1: 12,92 \pm 0,344 (n=11)	ZP 0 vs. ZP1	<0,001	ja
11,38 \pm 0,205 (n=12)	ZP 2: 12,71 \pm 0,270 (n=12)	ZP 0 vs. ZP 2	<0,001	ja
11,38 \pm 0,205 (n=12)	ZP 3: 12,37 \pm 0,219 (n=12)	ZP 0 vs. ZP 3	<0,001	ja
11,38 \pm 0,205 (n=12)	ZP 4: 12,23 \pm 0,298 (n=12)	ZP 0 vs. ZP 4	<0,001	ja
11,38 \pm 0,205 (n=12)	ZP 5: 12,23 \pm 0,279 (n=9)	ZP 0 vs. ZP 5	<0,001	ja

* 0=0 min (vor dem Stress)
1=30 min (Stress-Ende)
2-5=45, 75, 105, 135 min (nach der Stresseinleitung)

* One-Way Repeated Measures ANOVA

Tabelle 4.26 zeigt als Zusammenfassung die mittleren Glukosewerte, die an der Kontroll- und Stressgruppe der LSL-Hybridlinie im Beobachtungszeitraum (0-135 min) erfasst werden konnten.

Ergebnisse

Tab. 4.26: Mittlere (\pm SE) Glukosekonzentration im Blutplasma von LSL-Hennen vor, während und nach der Stressinduktion durch Fixation im Vergleich zu zeitgleichen Werten bei Kontrolltieren

ZP	Glukosekonzentration [mmol/l] LSL-Kontroll-Gruppe	Glukosekonzentration [mmol/l] LSL-Stress-Gruppe
0 (=0 min)	11,78 \pm 0,319 (n=14)	11,38 \pm 0,205 (n=12)
1 (=30 min)	12,09 \pm 0,370 (n=12) ^{*1} p=,0015	12,92 \pm 0,344 (n=11) ^{*1} p<0,001
2 (=45 min)	12,12 \pm 0,289 (n=12) ^{*1} p=0,010	12,71 \pm 0,270 (n=12) ^{*1} p<0,001
3 (=75min)	12,01 \pm 0,360 (n=11) ^{*1} p=0,026	12,37 \pm 0,219 (n=12) ^{*1} p<0,001
4 (=105 min)	11,79 \pm 0,353 (n=11)	12,23 \pm 0,298 (n=12) ^{*1} p<0,001
5 (=135 min)	12,08 \pm 0,304 (n=11) ^{*1} p=0,034	12,23 \pm 0,279 (n=9) ^{*1} p<0,001

*1 signifikant höher als der zugehörige 0-Wert

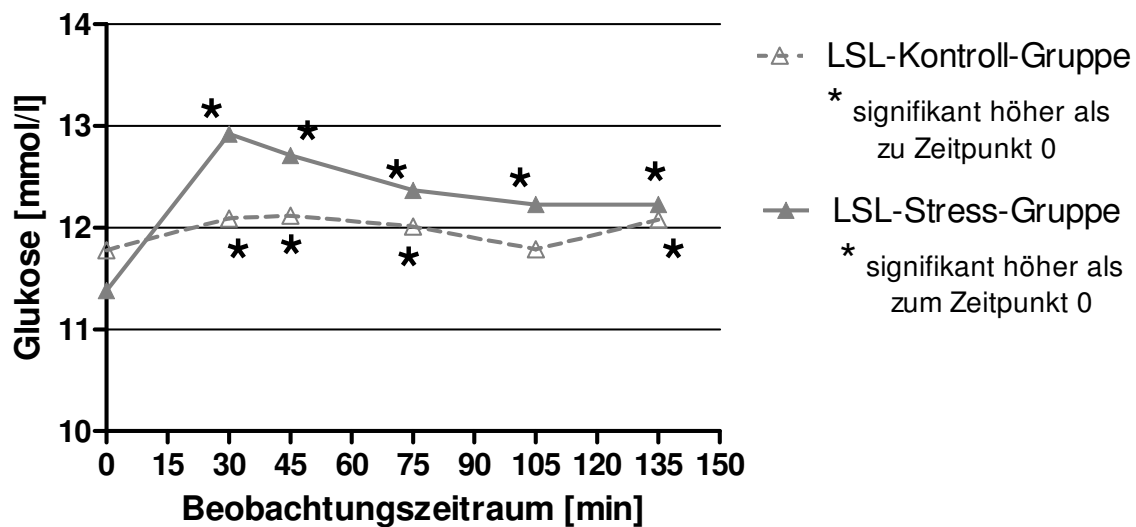


Abb. 4.18: Mittlerer zeitabhängiger Verlauf der Glukosekonzentration im Blutplasma von „gestressten“ (0-30 min) und nicht „gestressten“ (0-135 min) LSL-Hennen

Ergebnisse

4.2.5.2 Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Glukosekonzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1

Zum ZP 1 wurde zwischen den mittleren Glukose-Konzentrationswerten der Kontroll- und Stressgruppe ein t-Test angewandt. Beim Vergleich der beiden LSL-Gruppen stellte sich aber im Gegensatz zu den beiden LB-Gruppen kein signifikanter Unterschied heraus. p war exakt 0,119. Tabelle 4.27 hinterlegt die genauen Ergebnisse des t-Tests.

Tab. 4.27: Vergleich der mittleren (\pm SE) Glukosekonzentration in Blutplasmaproben, die bei Kontrolltieren und bei „gestressten“ LSL-Tieren zum ZP 1 (=30 min) entnommen wurden

ZP	Glukosekonzentration [mmol/l] LSL-Kontroll-Gruppe	Glukosekonzentration [mmol/l] LSL-Stress-Gruppe	p^*	Signifikanz des Unterschiedes
1	12,09 \pm 0,370 (n=12)	12,92 \pm 0,344 (n=11)	0,119	nein

* t-Test

Somit scheint sich bei den LSL-Tieren der Stressor bezüglich dieses Blutparameters nicht im selben Maße auszuwirken wie bei den LB-Tieren.

4.2.5.3 Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Glukosekonzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zu den ZP 2-5

Nachdem der statistische Test der Glukosewerte zum ZP 1 keine signifikanten Unterschiede zwischen der Kontroll- und Stressgruppe der LSL-Hennen hervorbrachte, lag die Vermutung nahe, dass es auch bei der Glukosekonzentration der restlichen Zeitpunkte keine Signifikanzen gab. Erneut durchgeführte t-Tests gaben dann tatsächlich Aufschluss darüber, dass im Vergleich von LSL-Kontroll- und

Ergebnisse

-Stressgruppe zu keinem Zeitpunkt signifikante Glukose-Konzentrationsunterschiede bestehen. Die Tabelle 4.28 zeigt die ermittelten Werte.

Tab. 4.28: Vergleich der mittleren (\pm SE) Poststress-Glukosewerte mit denen der Kontrollgruppe zu den ZP 2-5

ZP	Glukosekonzentration [mmol/l] LSL-Kontroll-Gruppe	Glukosekonzentration [mmol/l] LSL-Stress-Gruppe	p*	Signifikanz des Unterschiedes
2	12,12 \pm 0,289 (n=12)	12,71 \pm 0,270 (n=12)	0,149	nein
3	12,01 \pm 0,360 (n=11)	12,37 \pm 0,219 (n=12)	0,397	nein
4	11,79 \pm 0,353 (n=11)	12,23 \pm 0,298 (n=12)	0,346	nein
5	12,08 \pm 0,304 (n=11)	12,23 \pm 0,279 (n=9)	0,723	nein

* t-Test

Auch wenn anhand des t-Tests keine signifikanten Glukose-Konzentrationsunterschiede zwischen den beiden Gruppen zu beobachten waren, kann man anhand des unterschiedlichen Niveaus der beiden Kurvenverläufe (s. Abb. 4.18) dennoch annehmen, dass sich der Fixationsstress auch bei der LSL-Hybridlinie moderat auf die Blutglukosekonzentration auswirkt. Denn mit Ausnahme von ZP 0, verläuft der Konzentrationsgraph der LSL-Kontroll-Gruppe stets unterhalb des Konzentrationsgraphen der LSL-Stress-Gruppe. Dass eine Auswirkung der Immobilisierung in Form eines Anstieges der Blutglukose tatsächlich gegeben ist, konnte in der LSL-Stress-Gruppe bereits gezeigt werden. Alle Poststress-Glukosekonzentrationen (ZP 1-5) waren bezogen auf ZP 0 signifikant erhöht (s. Abb. 4.18).

4.2.6 Vergleich der behandlungsidentischen (Kontrolle bzw. Stressor) Glukosekonzentration im Beobachtungszeitraum bei den Hybridlinien LB und LSL

Um die beiden Legehybriden untereinander vergleichen zu können, wurde die behandlungsidentische Glukosekonzentration der LB- und der LSL-Linie miteinander verglichen. Startpunkt der statistischen Untersuchung ist hierbei wieder ZP 0. Ein t-Test ergab bei dem Vergleich der Glukosewerte beider Linien keine signifikanten Unterschiede. Es wurde ein p von 0,412 ermittelt. Als Mittelwert (\pm Standardfehler) der Blutglukosekonzentration ergaben sich für die LB-Gruppe $11,82 \pm 0,169$ mmol/l ($n=20$) und für die LSL-Gruppe $11,59 \pm 0,196$ mmol/l ($n=26$) (s. Tab. 4.29). Das Säulendiagramm (s. Abb. 4.19) verdeutlicht, wie nah die Mittelwerte samt Standardfehler zum ZP 0 beieinander liegen.

Tab. 4.29: Vergleich der mittleren (\pm SE) Glukosekonzentration bei LB- und LSL-Hennen zum ZP 0

ZP	Glukosekonzentration [mmol/l] LB-Hennen	Glukosekonzentration [mmol/l] LSL-Hennen	p*	Signifikanz des Unterschiedes
0	$11,82 \pm 0,169$ ($n=20$)	$11,59 \pm 0,196$ ($n=26$)	0,412	nein

* t-Test

Ergebnisse

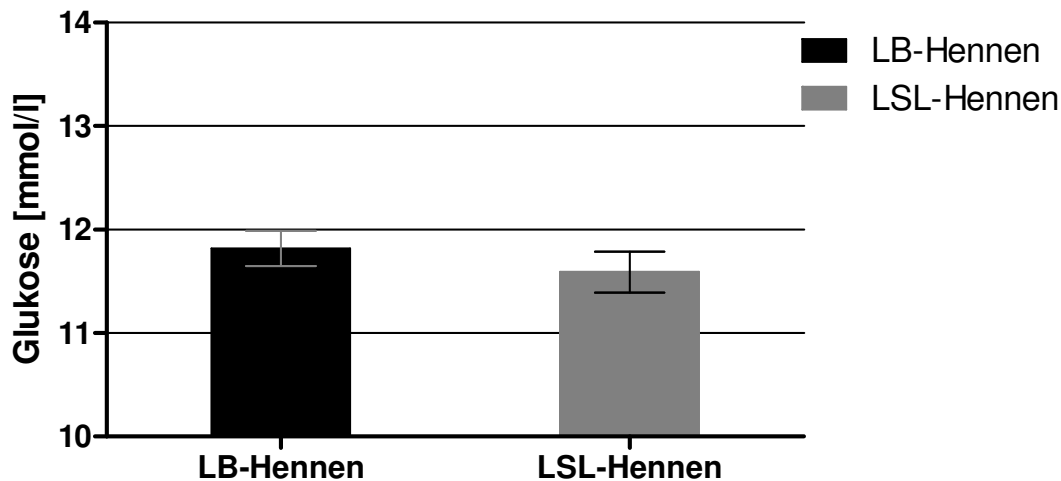


Abb. 4.19: Vergleich der mittleren Glukosekonzentration bei LB- und LSL-Hennen zum ZP 0 als Säulendiagramm (mit Angabe der Standardfehler)

Will man bei beiden Legelinien die Glukosekonzentration zum ZP 1 genauer betrachten, dann sind hierfür die Werte von vier Gruppen zu berücksichtigen. Diese setzen sich für beide Hybridlinien aus je einer Kontrollgruppe und je einer Stressgruppe zusammen. Zur Darstellung von signifikanten Unterschieden wurde deshalb bei diesen vier Gruppen eine One-Way ANOVA durchgeführt. Dieser Test ergab jedoch keine Signifikanzen zwischen den vier Gruppen. Es konnte für p ein Wert von 0,05 ermittelt werden (s. Tab. 4.30). Das Säulendiagramm (s. Abb. 4.20) vermittelt graphisch, wie wenig die einzelnen Gruppen im Mittel voneinander abweichen.

Tab. 4.30: Vergleich der mittleren (\pm SE) Glukosekonzentration bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ LB- bzw. LSL-Hennen zum ZP 1

Gruppe	Glukosekonzentration [mmol/l]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
LB Kontrolle	11,99 \pm 0,170 (n=10)	0,05	nein
LB Stressor	12,88 \pm 0,199 (n=11)		
LSL Kontrolle	12,09 \pm 0,370 (n=12)		
LSL Stressor	12,92 \pm 0,344 (n=11)		

* One-Way ANOVA

Ergebnisse

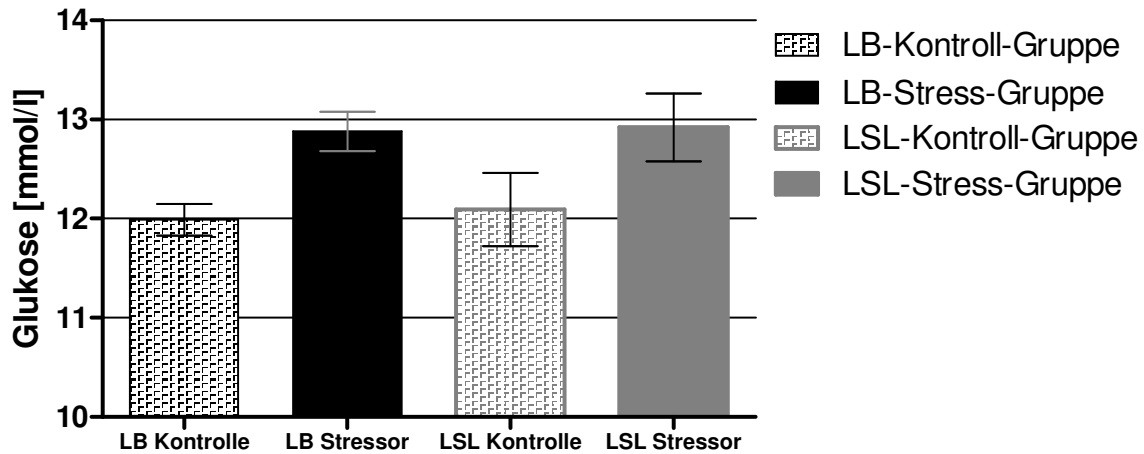


Abb. 4.20: Vergleich der behandlungs- (Kontrolle und Stressor) und der linien- (LB und LSL) spezifischen Glukosespiegel zum ZP 1 als Säulendiagramm (mit Angabe der Standardfehler)

Das Fehlen signifikanter Ergebnisse zum ZP 1 deutete bereits an, dass sich im Vergleich der beiden Legelinien auch zu den anderen Zeitpunkten keine signifikanten Glukose-Konzentrationsunterschiede herauskristallisieren würden. Eine für die ZP 2-5 herangezogene Untersuchung über eine One-Way ANOVA bestätigte diesen Verdacht. Zu keinem weiteren Zeitpunkt ergab sich für p ein Wert $<0,05$.

Abbildung 4.21 zeigt den zeitabhängigen mittleren Verlauf der Glukosekonzentration (s. Tab. 4.31) bei allen vier Gruppen. Hier lässt sich auch erneut erkennen, dass beide Kontrollgruppen einen relativ identischen Glukose-Konzentrationsverlauf aufweisen. Auch beide Stressgruppen weisen, unabhängig der Legelinie, ähnliche Blutglukosekonzentrationen auf.

Ergebnisse

Tab. 4.31: Mittlere (\pm SE) Glukosekonzentration im Blutplasma bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und LSL-Hybridlinie im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

ZP	Glukosekonzentration [mmol/l] LB-Kontroll-Gruppe	Glukosekonzentration [mmol/l] LB-Stress-Gruppe	Glukosekonzentration [mmol/l] LSL-Kontroll-Gruppe	Glukosekonzentration [mmol/l] LSL-Stress-Gruppe
0	11,82 \pm 0,198 (n=10)	11,81 \pm 0,271 (n=11)	11,78 \pm 0,319 (n=14)	11,38 \pm 0,205 (n=12)
1	11,99 \pm 0,170 (n=10)	12,88 \pm 0,199 (n=11)	12,09 \pm 0,370 (n=12)	12,92 \pm 0,344 (n=11)
2	12,11 \pm 0,190 (n=10)	12,74 \pm 0,171 (n=11)	12,12 \pm 0,289 (n=12)	12,71 \pm 0,270 (n=12)
3	12,06 \pm 0,163 (n=10)	12,31 \pm 0,214 (n=10)	12,01 \pm 0,360 (n=11)	12,37 \pm 0,219 (n=12)
4	12,00 \pm 0,136 (n=10)	12,01 \pm 0,287 (n=11)	11,79 \pm 0,353 (n=11)	12,23 \pm 0,298 (n=12)
5	12,01 \pm 0,142 (n=10)	11,95 \pm 0,240 (n=10)	12,08 \pm 0,304 (n=11)	12,23 \pm 0,279 (n=9)

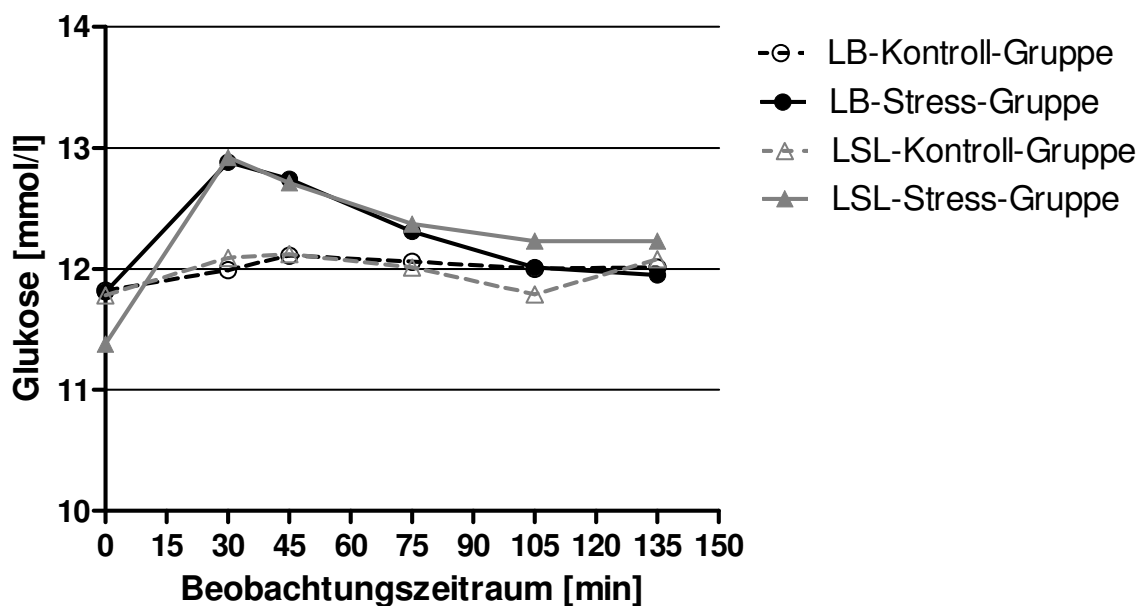


Abb. 4.21: Verlauf der mittleren Glukosekonzentration über alle 6 Meßzeitpunkte bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und LSL-Hybridlinie

4.2.7 Die Konzentration von Harnsäure bei Legehennen der LB-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen

Die Untersuchung der Harnsäurekonzentration im Blutplasma lieferte Ergebnisse mit sehr großen Schwankungen innerhalb und zwischen den einzelnen Tiergruppen. So wurden Harnsäurekonzentrationen von 54,0 $\mu\text{mol/l}$ (LB-Kontrolltier zum ZP 0) bis 362,0 $\mu\text{mol/l}$ (LSL-Kontrolltier zum ZP 0) gemessen. Da sowohl der niedrigste als auch der höchste Harnsäurewert zum ZP 0 gemessen wurde, spiegelt dies die breite Streuung der Harnsäurekonzentration im Blutplasma der vier Tiergruppen sehr gut wider.

4.2.7.1 Vergleich der mittleren Harnsäurewerte in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere

Zunächst wurde wieder die einzelne Behandlungsgruppe für sich betrachtet und statistisch ausgewertet. Dies geschah erneut mit einer One-Way Repeated Measures ANOVA. Für die LB-Kontroll-Gruppe konnte dabei keine Signifikanz ermittelt werden, denn p betrug 0,361. Auch bei der LB-Stress-Gruppe konnten im gesamten Beobachtungszeitraum zwischen den Harnsäurekonzentrationen keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden, da p einen Wert von 0,911 erreichte.

Der gesamte zeitliche Verlauf der mittleren Harnsäurekonzentration bei beiden Behandlungen (Kontrolle vs. Stressor) ist in Abbildung 4.22 wiedergegeben. Der annähernd deckungsgleiche Kurvenverlauf der mittleren Harnsäurekonzentration verdeutlicht nochmals das Fehlen signifikanter Unterschiede.

Ergebnisse

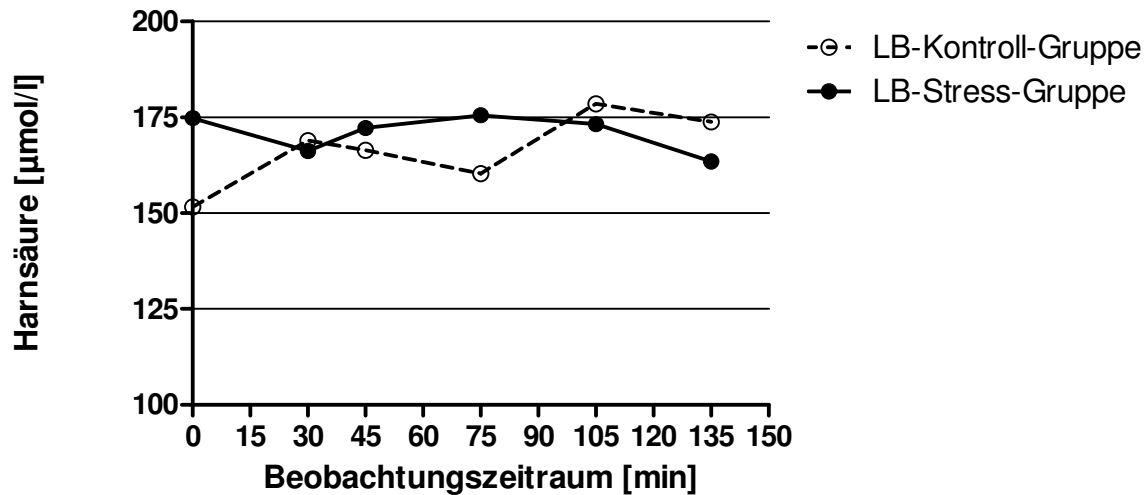


Abb. 4.22: Mittlerer zeitabhängiger Verlauf der Harnsäurekonzentration im Blutplasma von „gestressten“ (0-30 min) und nicht „gestressten“ (0-135 min) LB-Hennen

4.2.7.2 Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Harnsäurekonzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1

Nachdem es zum ZP 1 bereits bei den Konzentrationen anderer Blutparameter innerhalb der Legelinie, aber zwischen der Kontroll- und Stressgruppe Signifikanzen gab, sollte der durchgeführte t-Test das Ergebnis bezüglich der Harnsäure klären. Es ergab sich für p ein Wert von 0,920 und somit keine Signifikanz. Der Harnsäuremittelwert der LB-Kontroll-Gruppe lag bei $168,84 \pm 13,553 \mu\text{mol/l}$ bei ($n=10$) und jener der LB-Stress-Gruppe bei $166,23 \pm 21,233 \mu\text{mol/l}$ ($n=11$).

4.2.7.3 Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Harnsäurekonzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und Stressgruppe zu den ZP 2-5

Da schon zum ZP 1 sich die Harnsäurekonzentrationen der Kontroll- und Stressgruppe nicht signifikant unterschieden, konnte man davon ausgehen, dass

Ergebnisse

dies auch zu den ZP 2-5 nicht der Fall war. Zum ZP 2 ermittelte der Mann-Whitney Rank Sum Test für p einen Wert von 0,805. Der Mittelwert der Kontrollgruppe betrug $166,41 \pm 11,996 \mu\text{mol/l}$ (n=10) und der Mittelwert der Stressgruppe $172,21 \pm 18,001 \mu\text{mol/l}$ (n=11).

Zu den weiteren ZP 3-5 wurde ebenfalls, um die beiden Behandlungsgruppen statistisch miteinander vergleichen zu können, ein t-Test angewandt, der wie erwartet keinerlei signifikanten Unterschied ergab. Tabelle 4.32 stellt die Poststress-Ergebnisse den Kontrollergebnissen für die ZP 2-5 in einer Übersicht gegenüber.

Tab. 4.32: Vergleich der mittleren (\pm SE) Poststress-Harnsäurewerte mit denen der Kontrollgruppe zu den ZP 2-5

ZP	Harnsäurekonzentration [$\mu\text{mol/l}$] LB-Kontroll-Gruppe	Harnsäurekonzentration [$\mu\text{mol/l}$] LB-Stress-Gruppe	p	Signifikanz des Unterschiedes
2	$166,41 \pm 11,996$ (n=10)	$172,21 \pm 18,001$ (n=11)	0,805**	nein
3	$160,33 \pm 19,382$ (n=9)	$175,55 \pm 16,768$ (n=10)	0,206**	nein
4	$178,50 \pm 22,717$ (n=10)	$173,18 \pm 15,481$ (n=11)	0,846*	nein
5	$173,75 \pm 17,745$ (n=10)	$163,43 \pm 15,384$ (n=10)	0,666*	nein

* t-Test

** Mann-Whitney Test

4.2.8 Die Konzentration von Harnsäure bei Legehennen der LSL-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen

4.2.8.1 Vergleich der mittleren Harnsäurewerte in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere

Eine Betrachtung der Werte innerhalb der LSL-Kontroll-Gruppe brachte keine signifikanten Unterschiede zueinander auf. Für p errechnete sich anhand einer One-Way Repeated Measures ANOVA 0,920. Eine spätere Überprüfung der LSL-Stress-

Ergebnisse

Gruppe kam ebenfalls zu keinem signifikanten Unterschied ($p=0,130$). In Abbildung 4.23 wird der mittlere Verlauf der Harnsäurekonzentration über den gesamten Beobachtungszeitraum dargestellt. Der zeitliche Verlauf ist abermals in min beschrieben.

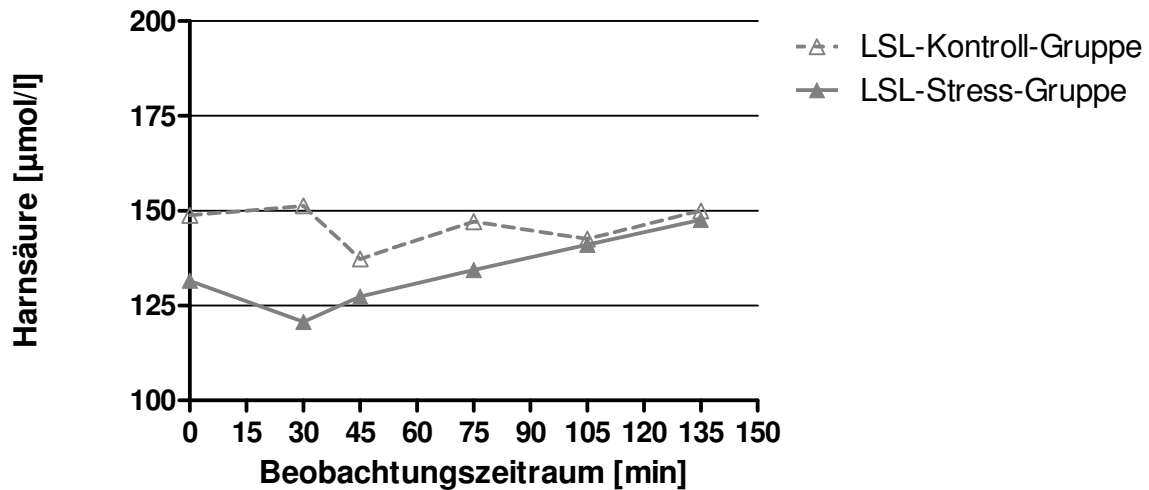


Abb. 4.23: Mittlerer zeitabhängiger Verlauf der Harnsäurekonzentration im Blutplasma von „gestressten“ (0-30 min) und nicht „gestressten“ (0-135 min) LSL-Hennen

4.2.8.2 Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Harnsäurekonzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1

Ein t-Test bezogen auf die mittlere Harnsäurekonzentration der LSL-Kontroll- und der LSL-Stress-Gruppe lieferte zum ZP 1 keine Signifikanz. Der Wert für p lag bei 0,207. Die Kontrollgruppe ergab einen Mittelwert in Höhe von $151,26 \pm 19,810 \mu\text{mol/l}$ ($n=12$), die Stressgruppe einen Mittelwert von $120,68 \pm 11,545 \mu\text{mol/l}$ ($n=11$).

Ergebnisse

4.2.8.3 Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Harnsäurekonzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und Stressgruppe zu den ZP 2-5

Da es bereits zum ZP 1 keinen signifikanten Unterschied bei der mittleren Harnsäurekonzentration der LSL-Kontroll- und -Stress-Gruppe gab, ließen auch die Ergebnisse zu den ZP 2-5 keine signifikanten Unterschiede erwarten. Die folgende Tabelle (s. Tab. 4.33) veranschaulicht das Resultat zahlenmäßig.

Tab. 4.33: Vergleich der mittleren (\pm SE) Poststress-Harnsäurewerte mit denen der Kontrollgruppe zu den ZP 2-5

ZP	Harnsäurekonzentration [μmol/l] LSL-Kontroll-Gruppe	Harnsäurekonzentration [μmol/l] LSL-Stress-Gruppe	p	Signifikanz des Unterschiedes
2	137,26 \pm 18,240 (n=12)	127,34 \pm 11,290 (n=12)	0,931**	nein
3	147,16 \pm 14,123 (n=11)	134,37 \pm 9,986 (n=12)	0,462*	nein
4	142,57 \pm 9,422 (n=11)	141,02 \pm 15,065 (n=12)	0,622**	nein
5	149,93 \pm 11,562 (n=11)	147,59 \pm 20,559 (n=9)	0,494**	nein

* t-Test

** Mann-Whitney Test

4.2.9 Vergleich der behandlungsidentischen (Kontrolle bzw. Stressor) Harnsäurekonzentration im Beobachtungszeitraum bei den Hybridlinien LB und LSL

Zum ZP 0 wurde die Harnsäurekonzentration aller LB-Hennen und aller LSL-Hennen einander gegenübergestellt. Es sollte hier beurteilt werden, ob sich die beiden Hybridlinien vom Harnsäure-Basalwert her gesehen unterscheiden. Die statistische Auswertung erfolgte unter Verwendung des Mann-Whitney Rank Sum Testes. Dieser lieferte keinen signifikanten Unterschied. Der p-Wert betrug 0,235. Der mittlere Basalwert der LB-Gruppe lag bei 163,74 \pm 14,911 μ mol/l (n=21). Die LSL-Hennen wiesen einen basalen Harnsäure-Konzentrationsmittelwert von 140,81 \pm 10,378

Ergebnisse

$\mu\text{mol/l}$ ($n=26$) auf. Die Abbildung 4.24 zeigt diese mittleren Harnsäure-Basalwerte als Säulendiagramm.

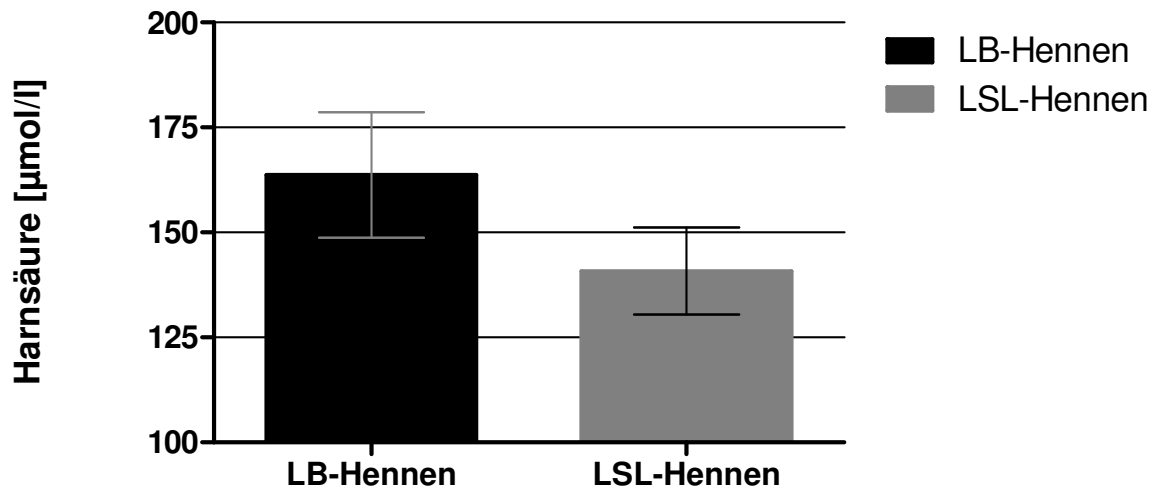


Abb. 4.24: Vergleich der mittleren Harnsäurekonzentration bei LB- und LSL-Hennen zum ZP 0 als Säulendiagramm (mit Angabe der Standardfehler)

Beim Harnsäure-Konzentrationsvergleich beider Legelinien zum ZP 1 mussten vier Gruppen berücksichtigt werden. Aus diesem Grund wurde bei der statistischen Auswertung eine One-Way ANOVA angewendet. Dieser Test ergab keine signifikanten Unterschiede. Denn es wurde für p ein Wert von 0,206 ermittelt. Eine Übersicht zu diesem Ergebnis liefert die Tabelle 4.34. Eine graphische Darstellung dieses Ergebnisses zeigt Abbildung 4.25.

Ergebnisse

Tab. 4.34: Vergleich der mittleren (\pm SE) Harnsäurekonzentration bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ LB- bzw. LSL-Hennen zum ZP 1

Gruppe	Harnsäurekonzentration [$\mu\text{mol/l}$]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
LB Kontrolle	168,84 \pm 13,553 (n=10)	0,206	nein
LB Stressor	166,23 \pm 21,233 (n=11)		
LSL Kontrolle	151,26 \pm 19,810 (n=12)		
LSL Stressor	120,68 \pm 11,545 (n=11)		

* One-Way ANOVA

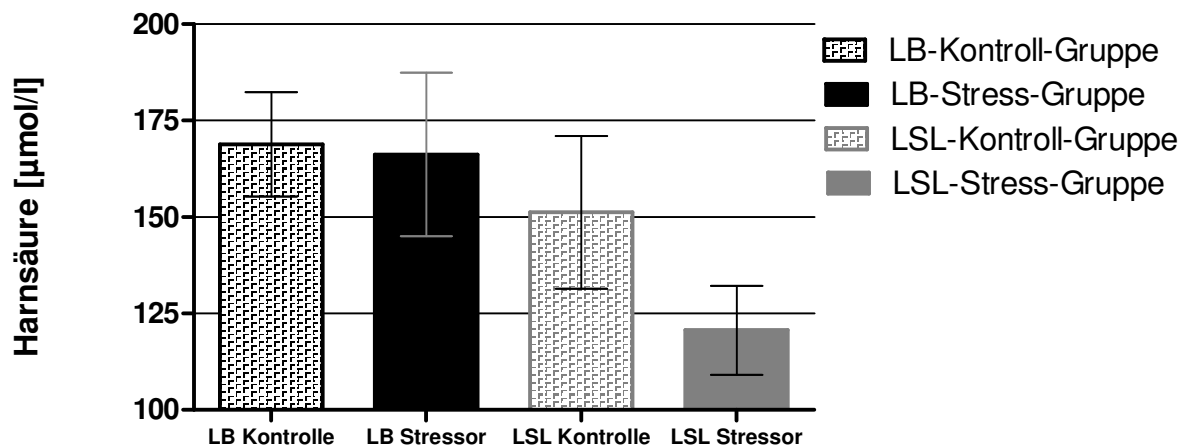


Abb. 4.25: Vergleich der behandlungs- (Kontrolle und Stressor) und der linien- (LB und LSL) spezifischen Harnsäurespiegel zum ZP 1 als Säulendiagramm (mit Angabe der Standardfehler)

Die Ergebnisse zum ZP 1 ließen schon vermuten: Die zu den anderen Zeitpunkten durchgeführte One-Way ANOVA bzw. Kruskal-Wallis One-Way ANOVA zeigte zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede zwischen den Harnsäurewerten bei beiden Legelinien. Der Wert für p war stets $>0,05$.

Die nachfolgende Abbildung 4.26 zeigt alle Harnsäure-Werte (s. Tab. 4.35) der vier Tiergruppen im zeitlichen Verlauf. Angegeben sind für jede Behandlungsgruppe die Harnsäure-Mittelwerte zu den vorgegebenen 6 Zeitpunkten. Auch wenn es statistisch

Ergebnisse

gesehen keine signifikanten Unterschiede gab, lassen die vier Kurvenverläufe doch vermuten, dass es zwischen der LB- und LSL-Gruppe doch gewisse Niveau-Unterschiede im Harnsäure-Konzentrationsverlauf gibt. So liegen die Harnsäurewerte bei den LSL-Hennen permanent unter denen der LB-Hennen.

Tab. 4.35: Mittlere (\pm SE) Harnsäurekonzentration im Blutplasma bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und LSL-Hybridlinie im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

ZP	Harnsäurekonzentration [μ mol/l] LB-Kontroll-Gruppe	Harnsäurekonzentration [μ mol/l] LB-Stress-Gruppe	Harnsäurekonzentration [μ mol/l] LSL-Kontroll-Gruppe	Harnsäurekonzentration [μ mol/l] LSL-Stress-Gruppe
0	151,61 \pm 18,271 (n=10)	174,77 \pm 23,456 (n=11)	148,77 \pm 18,618 (n=14)	131,52 \pm 6,154 (n=12)
1	168,84 \pm 13,553 (n=10)	166,23 \pm 21,233 (n=11)	151,26 \pm 19,810 (n=12)	120,68 \pm 11,545 (n=11)
2	166,41 \pm 11,996 (n=10)	172,21 \pm 18,001 (n=11)	137,26 \pm 18,240 (n=12)	127,34 \pm 11,290 (n=12)
3	160,33 \pm 19,382 (n=9)	175,55 \pm 16,768 (n=10)	147,16 \pm 14,123 (n=11)	134,37 \pm 9,986 (n=12)
4	178,50 \pm 22,717 (n=10)	173,18 \pm 15,481 (n=11)	142,57 \pm 9,422 (n=11)	141,02 \pm 15,065 (n=12)
5	173,75 \pm 17,745 (n=10)	163,43 \pm 15,384 (n=10)	149,93 \pm 11,562 (n=11)	147,59 \pm 20,559 (n=9)

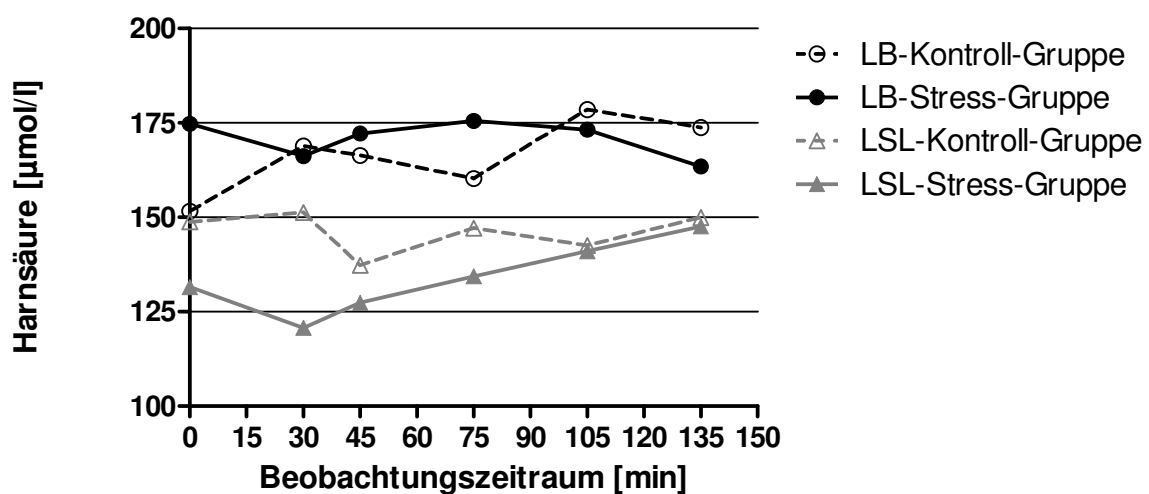


Abb. 4.26: Verlauf der mittleren Harnsäurekonzentration über alle 6 Meßzeitpunkte bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und LSL-Hybridlinie

4.2.10 Die Konzentration von Freien Fettsäuren bei Legehennen der LB-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen

Die Erfassung des Konzentrationsverlaufes der FFS im Blutplasma erfolgte wie auch bei Glukose und Harnsäure legelinien- und behandlungsspezifisch. Die Ergebnisse lagen im Bereich von 0,18 mmol/l (LSL-Kontrolltier zum ZP 0) bis 0,94 mmol/l (LSL-Kontrolltier zum ZP 1).

4.2.10.1 Vergleich der mittleren Werte der Freien Fettsäuren in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere

Analog zu den vergangenen Abschnitten werden zunächst die Ergebnisse der LB-Kontroll- und LB-Stress-Gruppe dargestellt. Mittels der One-Way Repeated Measures ANOVA wurde bei der Kontrollgruppe ein Wert für p in Höhe von 0,274 ermittelt. Das heißt, im Beobachtungszeitraum lassen sich für die mittlere FFS-Konzentration keine signifikanten Unterschiede finden. Ebenfalls keine Signifikanz lieferte die statistische Untersuchung der mittleren FFS-Werte der LB-Stress-Gruppe im Beobachtungszeitraum. Der Wert für p betrug hier 0,597. Den zeitabhängigen Verlauf der behandlungsspezifischen FFS-Werte im gesamten Beobachtungszeitraum liefert Abbildung 4.27.

Ergebnisse

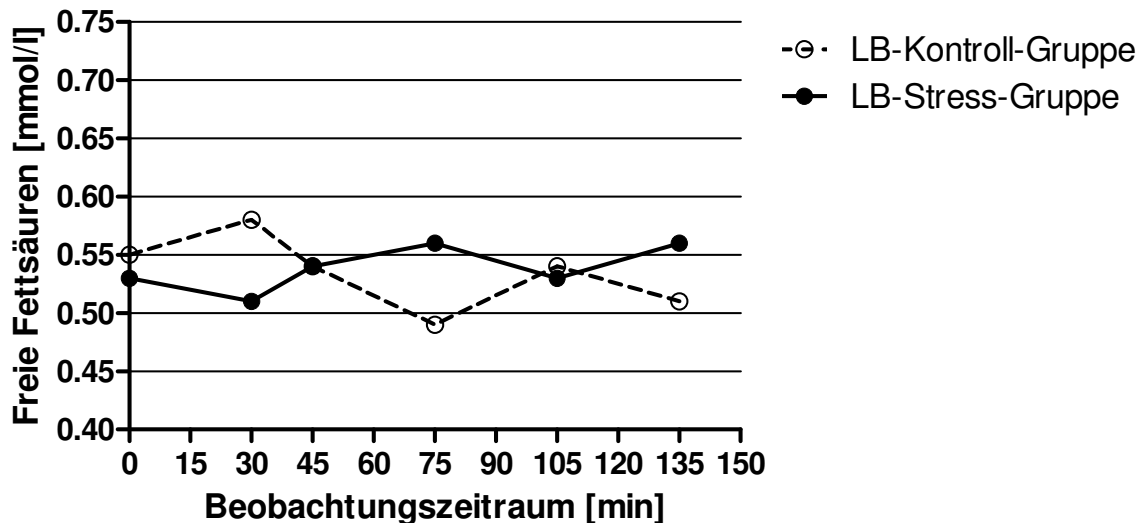


Abb. 4.27: Mittlerer zeitabhängiger Verlauf der FFS-Konzentration im Blutplasma von „gestressten“ (0-30 min) und nicht „gestressten“ (0-135 min) LB-Hennen

4.2.10.2 Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Freien Fettsäure-Konzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1

Auch bei einem Vergleich behandlungsspezifischer FFS-Werte innerhalb der LB-Legelinie zum ZP 1 ergaben sich keine signifikanten Unterschiede. Der Mann-Whitney Rank Sum Test ergab einen p-Wert von 0,260. So ließ sich für die Kontrollgruppe zum ZP 1 ein Mittelwert von $0,58 \pm 0,047$ mmol/l ($n=10$) und für die Stressgruppe ein Mittelwert von $0,51 \pm 0,030$ mmol/l ($n=11$) berechnen.

4.2.10.3 Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Freien Fettsäure-Konzentration bei LB-Hennen der Kontroll- und Stressgruppe zu den ZP 2-5

Auch die Durchführung eines t-Testes für die FFS-Werte zum ZP 2 ergab keinen signifikanten behandlungsspezifischen Unterschied. Der Wert für p lag bei 0,888. Die FFS-Konzentrationsmittelwerte zu diesem Zeitpunkt lagen für die Kontrollgruppe bei

Ergebnisse

0,54 ± 0,047 mmol/l (n=10) und für die Stressgruppe bei 0,54 ± 0,028 mmol/l (n=11) (s. Tab. 4.35).

Für alle weiteren Zeitpunkte (3-5) ließen sich ebenfalls keine signifikanten behandlungsspezifische Unterschiede in der FFS-Konzentration ermitteln. Die für diese Zeitpunkte typischen Mittelwerte sind ebenfalls Tabelle 4.36 zu entnehmen.

Tab. 4.36: Vergleich der mittleren (±SE) Poststress-FFS-Werte mit denen der Kontrollgruppe zu den ZP 2-5

ZP	FFS-Konzentration [mmol/l] LB-Kontroll-Gruppe	FFS-Konzentration [mmol/l] LB-Stress-Gruppe	p*	Signifikanz des Unterschiedes
2	0,54 ± 0,047 (n=10)	0,54 ± 0,028 (n=11)	0,888	nein
3	0,49 ± 0,040 (n=9)	0,56 ± 0,057 (n=10)	0,323	nein
4	0,54 ± 0,036 (n=10)	0,53 ± 0,027 (n=11)	0,810	nein
5	0,51 ± 0,029 (n=10)	0,56 ± 0,032 (n=10)	0,294	nein

* t-Test

4.2.11 Die Konzentration von Freien Fettsäuren bei Legehennen der LSL-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen

4.2.11.1 Vergleich der mittleren Werte der Freien Fettsäuren in allen zeitgleich gewonnenen Plasmaproben der Stress- und der Kontrolltiere

Analog zur Vorgehensweise bei der Darstellung der Glukose-Konzentrations- bzw. Harnsäure-Konzentrationsergebnisse wurde mithilfe einer One-Way Repeated Measures ANOVA zunächst die Entwicklung der Konzentration an FFS im Blutplasma innerhalb einer einzelnen Behandlungsgruppe untersucht. Sowohl die LSL-Kontrolltiere als auch die LSL-Stresstiere wiesen hierbei im Beobachtungszeitraum keine signifikanten Werte auf. Der Wert für $p_{\text{LSL, Kontrolle}}$ betrug 0,671 und der für $p_{\text{LSL, Stressor}}$ belief sich auf 0,889.

Ergebnisse

In Abbildung 4.28 wird der zeitabhängige mittlere Konzentrationsverlauf der FFS für beide Behandlungsgruppen der LSL-Linie graphisch dargestellt. Interessant ist, dass mit Ausnahme von ZP 1 alle FFS-Konzentrationswerte der LSL-Stress-Gruppe deutlich über den Werten der LSL-Kontroll-Gruppe zu liegen kommen. Ein signifikanter Unterschied ließ sich aber trotzdem nicht herausarbeiten.

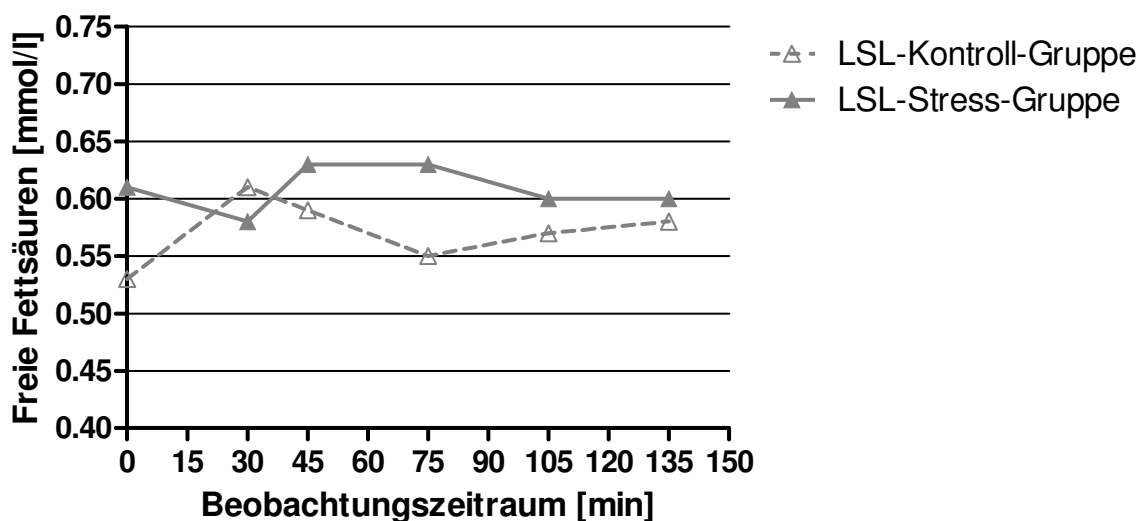


Abb. 4.28: Mittlerer zeitabhängiger Verlauf der FFS-Konzentration im Blutplasma von „gestressten“ (0-30 min) und nicht „gestressten“ (0-135 min) LSL-Hennen

4.2.11.2 Bestätigung der induzierten Stresssituation anhand der Freien Fettsäure-Konzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zum ZP 1

Wie bereits mehrfach praktiziert, wurden auch für die statistische Auswertung der FFS-Konzentration zum ZP 1 die Werte der LSL-Kontroll- und der LSL-Stress-Gruppe einander gegenübergestellt und mit Hilfe eines t-Testes analysiert. Das Ergebnis zeigt, dass sich die FFS-Werte bei beiden LSL-Gruppen nicht behandlungsspezifisch signifikant unterscheiden. p liegt bei 0,677. Die ZP 1-Mittelwerte der FFS-Konzentration liegen für die der LSL-Kontrolle bei $0,61 \pm 0,054$ mmol/l ($n=12$) und für die LSL-Stress-Gruppe bei $0,58 \pm 0,036$ mmol/l ($n=11$).

Ergebnisse

4.2.11.3 Beurteilung der Poststress-Situation anhand der Freien Fettsäure-Konzentration bei LSL-Hennen der Kontroll- und Stressgruppe zu den ZP 2-5

In Tabelle 4.37 sind die statistischen Ergebnisse zur FFS-Konzentration bei den ZP 2-5 wiedergegeben.

Tab. 4.37: Vergleich der mittleren (\pm SE) Poststress-FFS-Werte mit denen der Kontrollgruppe zu den ZP 2-5

ZP	FFS-Konzentration [mmol/l] LSL-Kontroll-Gruppe	FFS-Konzentration [mmol/l] LSL-Stress-Gruppe	p	Signifikanz des Unterschiedes
2	0,59 \pm 0,054 (n=12)	0,63 \pm 0,039 (n=12)	0,621*	nein
3	0,55 \pm 0,064 (n=11)	0,63 \pm 0,030 (n=12)	0,325**	nein
4	0,57 \pm 0,049 (n=11)	0,60 \pm 0,030 (n=12)	0,614*	nein
5	0,58 \pm 0,041 (n=11)	0,60 \pm 0,034 (n=9)	0,655*	nein

* t-Test

** Mann-Whitney Test

4.2.12 Vergleich der behandlungsidentischen (Kontrolle bzw. Stressor) Freien Fettsäuren-Konzentration im Beobachtungszeitraum bei den Hybridlinien LB und LSL

Ein t-Test unter Einbindung aller FFS-Konzentrationswerte zum ZP 0 der LB- und LSL-Tiere sollte klären, ob sich die beiden Linien in ihrem FFS-Basalwert unterscheiden. Der Wert für p lag bei 0,471. Das heißt beide Linien unterscheiden sich im Basalwert nicht signifikant voneinander. Der zeitpunktspezifische Mittelwert der LB-Linie lag bei 0,54 \pm 0,026 mmol/l (n=21), derjenige für die LSL-Gruppe bei 0,57 \pm 0,033 mmol/l (n=26). Die Abbildung 4.29 zeigt die Mittelwerte beider Gruppen zum ZP 0 als Säulendiagramm.

Ergebnisse

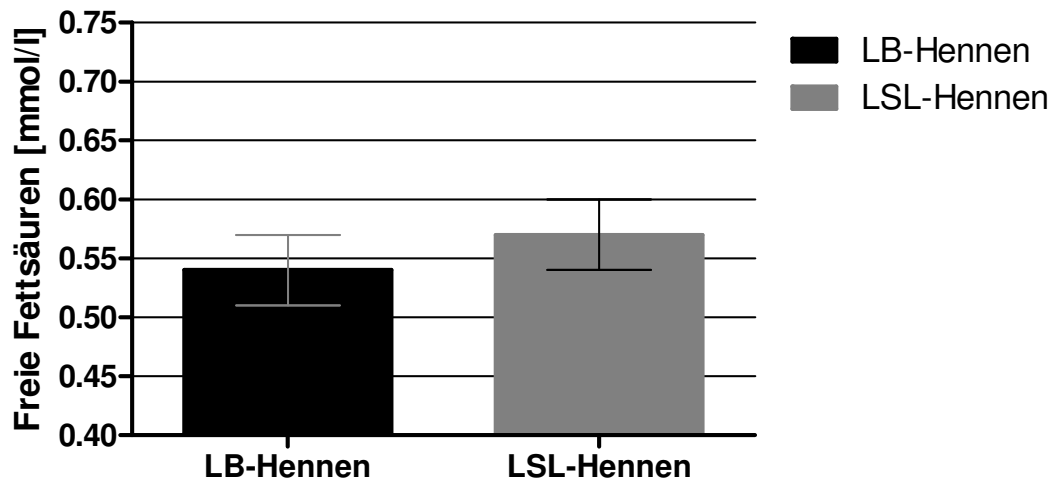


Abb. 4.29: Vergleich der mittleren FFS-Konzentration bei LB- und LSL-Hennen zum ZP 0 als Säulendiagramm (mit Angabe der Standardfehler)

Für einen Vergleich der FFS-Konzentration bei beiden Legelinien mussten wiederum vier Tiergruppen mittels einer One-Way ANOVA statistisch ausgewertet werden. Dieser Test lieferte ein p von 0,424, also zum ZP 1 unterscheiden sich alle vier Gruppen nicht signifikant voneinander. Das heißt, die körperliche Fixation (=Stressor) scheint sich nicht signifikant auf den Gehalt der FFS im Blutplasma auszuwirken und Abbildung 4.30 und Tabelle 4.38 geben den Vergleich der FFS-Konzentration bei allen vier Gruppen zum ZP 1 zahlenmäßig bzw. graphisch wieder.

Tab. 4.38: Vergleich der mittleren (\pm SE) FFS-Konzentration bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ LB- bzw. LSL-Hennen zum ZP 1

Gruppe	FFS-Konzentration [mmol/l]	p^*	Signifikanz des Unterschiedes
LB Kontrolle	$0,58 \pm 0,047$ (n=10)	0,424	nein
LB Stressor	$0,51 \pm 0,030$ (n=11)		
LSL Kontrolle	$0,61 \pm 0,054$ (n=12)		
LSL Stressor	$0,58 \pm 0,036$ (n=11)		

* One-Way ANOVA

Ergebnisse

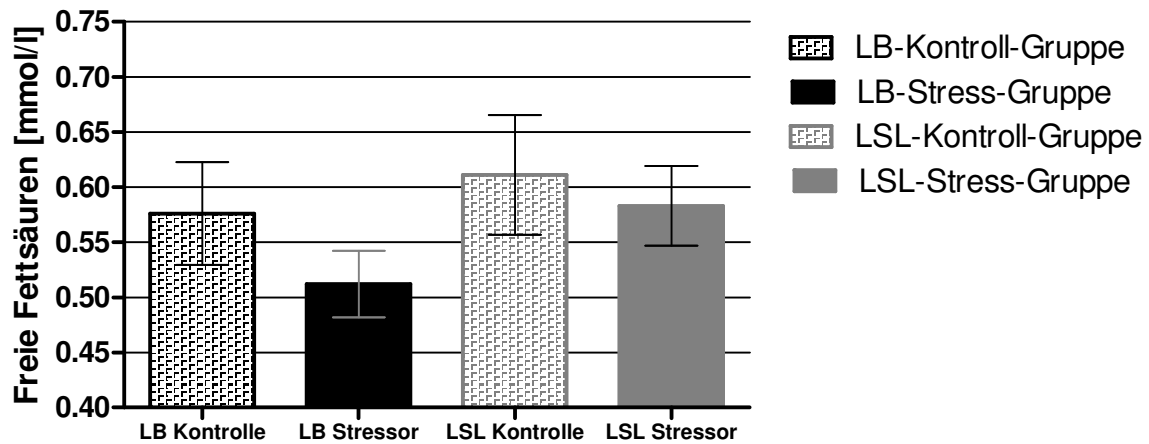


Abb. 4.30: Vergleich der behandlungs- (Kontrolle und Stressor) und der linien- (LB und LSL) spezifischen FFS-Spiegel zum ZP 1 als Säulendiagramm
(mit Angabe der Standardfehler)

Wie aufgrund der fehlenden Signifikanz zu ZP 1 zu erwarten war, ergibt die One-Way ANOVA beim Vergleich der vier Tiergruppen zu den ZP 2-5 keinerlei signifikanten FFS-Konzentrationsunterschied. Die Werte für p waren stets $>0,05$.

Auch für die FFS soll deren zeitabhängiger Konzentrationsverlauf anhand einer Abbildung (4.31) für alle vier Tiergruppen zusammenfassend dargestellt werden. Trotz kaum vorhandener Ähnlichkeiten im Konzentrationsniveau (s. Tab. 4.39) und in der Art des Verlaufs der FFS-Mittelwerte sind die vier Kurven nicht signifikant unterschiedlich. Alle Konzentrationsabweichungen liegen in einem Bereich von 0,49-0,63 mmol/l.

Ergebnisse

Tab. 4.39: Mittlere (\pm SE) FFS-Konzentration im Blutplasma bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und LSL-Hybridlinie im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

ZP	FFS-Konzentration [mmol/l] LB-Kontroll-Gruppe	FFS-Konzentration [mmol/l] LB-Stress-Gruppe	FFS-Konzentration [mmol/l] LSL-Kontroll-Gruppe	FFS-Konzentration [mmol/l] LSL-Stress-Gruppe
0	0,55 \pm 0,034 (n=10)	0,53 \pm 0,041 (n=11)	0,53 \pm 0,050 (n=14)	0,61 \pm 0,039 (n=12)
1	0,58 \pm 0,047 (n=10)	0,51 \pm 0,030 (n=11)	0,61 \pm 0,054 (n=12)	0,58 \pm 0,036 (n=11)
2	0,54 \pm 0,047 (n=10)	0,54 \pm 0,028 (n=11)	0,59 \pm 0,054 (n=12)	0,63 \pm 0,039 (n=12)
3	0,49 \pm 0,040 (n=9)	0,56 \pm 0,057 (n=10)	0,55 \pm 0,064 (n=11)	0,63 \pm 0,030 (n=12)
4	0,54 \pm 0,036 (n=10)	0,53 \pm 0,027 (n=11)	0,57 \pm 0,049 (n=11)	0,60 \pm 0,030 (n=12)
5	0,51 \pm 0,029 (n=10)	0,56 \pm 0,032 (n=10)	0,58 \pm 0,041 (n=11)	0,60 \pm 0,034 (n=9)

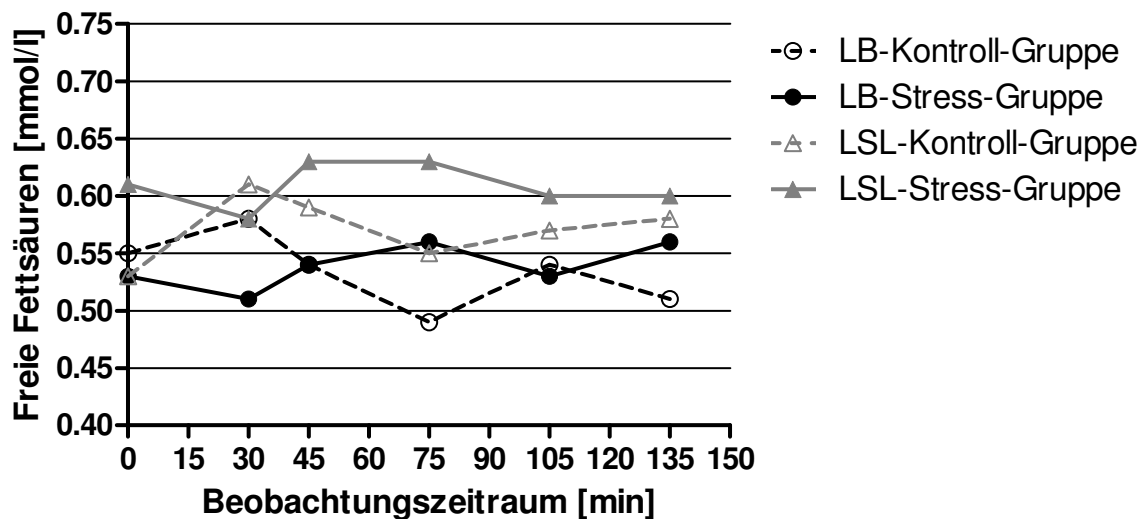


Abb. 4.31: Verlauf der mittleren FFS-Konzentration über alle 6 Meßzeitpunkte bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und LSL-Hybridlinie

4.3 Stress-Analyse mittels Körpertemperatur-Messungen

4.3.1 Die Körpertemperatur der Legehennen der LB-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen

Die über die kloakale Messung erhaltenen Werte der Körpertemperatur liegen in einem überraschend breiten Bereich. Sowohl der niedrigste Wert (40,2 °C zum ZP 5) als auch der höchste Wert (42,0 °C zum ZP 2) wurden innerhalb der LB-Linie bei zwei verschiedenen Tieren gemessen.

4.3.1.1 Vergleich der mittleren Körpertemperatur der Stress- und der Kontrolltiere

Um einen ersten statistischen Einblick zu erhalten wurden die Temperaturwerte beider Behandlungsgruppen der LB-Linie (Kontrolle und Stressor) zu allen Zeitpunkten jeweils mit einer One-Way Repeated Measures ANOVA überprüft. Dabei ergab sich für die LB-Kontroll-Gruppe knapp keine Signifikanz, denn der Wert für p belief sich auf 0,055. Bei der LB-Stress-Gruppe wurde dagegen ein Wert für p von 0,002 errechnet. Ein weiterer Test (Holm-Sidak Methode) erfasste die Signifikanzen etwas konkreter. Die Ergebnisse sind der Tabelle 4.40 zu entnehmen. In den Fällen bei denen es signifikante Unterschiede gab, kann aus der Abbildung 4.32 entnommen werden, dass alle signifikanten Temperaturunterschiede darauf beruhen, dass die Poststress-Temperaturen (ZP 1-5) immer deutlich niedriger lagen als die Ausgangstemperatur (ZP 0).

Ergebnisse

Tab. 4.40: Mittlere (\pm SE) Körpertemperatur von LB-Stresshennen im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

Körpertemperatur [°C] zum ZP 0*	Körpertemperatur [°C] zu den ZP 1-5*	Holm-Sidak Methode	p**	Signifikanz des Unterschiedes
41,48 \pm 0,059 (n=10)	ZP 1: 41,14 \pm 0,082 (n=10)	ZP 0 vs. ZP1	<0,001	ja
41,48 \pm 0,059 (n=10)	ZP 2: 41,25 \pm 0,106 (n=10)	ZP 0 vs. ZP 2	0,015	ja
41,48 \pm 0,059 (n=10)	ZP 3: 41,20 \pm 0,070 (n=10)	ZP 0 vs. ZP 3	0,004	ja
41,48 \pm 0,059 (n=10)	ZP 4: 41,19 \pm 0,099 (n=10)	ZP 0 vs. ZP 4	0,017	ja
41,48 \pm 0,059 (n=10)	ZP 5: 41,08 \pm 0,112 (n=10)	ZP 0 vs. ZP 5	<0,001	ja

* 0=0 min (vor dem Stress)
1=30 min (Stress-Ende)
2-5=45, 75, 105, 135 min (nach der Stresseinleitung)

** One-Way Repeated Measures ANOVA

Ein anschaulicher zeitabhängiger mittlerer Kurvenverlauf der Körpertemperatur im gesamten Beobachtungszeitraum ist für die beiden Behandlungsgruppen der LB-Linie in Abbildung 4.32 wiedergegeben.

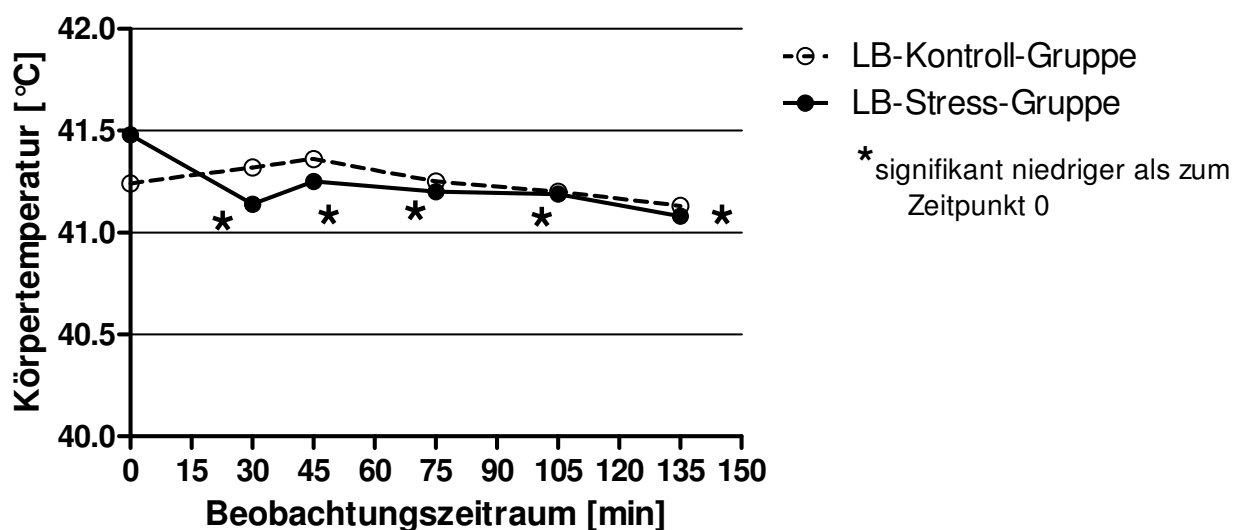


Abb. 4.32: Mittlerer zeitabhängiger Verlauf der Körpertemperatur von „gestressten“ (0-30min) und nicht „gestressten“ (0-135min) LB-Hennen

Ergebnisse

4.3.1.2 Beurteilung der induzierten Stresssituation anhand der Körpertemperatur von LB-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zu den ZP 1-5

Zu jedem einzelnen ZP 1-5 wurden die Temperaturwerte der LB-Kontroll-Gruppe mit den Temperaturwerten der LB-Stress-Gruppe direkt verglichen. Von besonderem Interesse war dabei, ob sich die Temperaturen beider Gruppen zum ZP 1 signifikant unterscheiden. Die Überprüfung erfolgte mittels t-Test bzw. Mann-Whitney Rank Sum Test. Tabelle 4.41 zeigt alle errechneten p-Werte, die stets, auch zum ZP 1, $>0,05$ waren. Daraus ist zu entnehmen, dass die Temperaturwerte auch zum ZP 1 nicht signifikant unterschiedlich zur Kontrollgruppe waren.

Tab. 4.41: Vergleich der mittleren (\pm SE) Poststress-Temperaturwerte mit denen der Kontrollgruppe zu den ZP 1-5

ZP	Körpertemperatur [°C] LB-Kontroll-Gruppe	Körpertemperatur [°C] LB-Stress-Gruppe	p	Signifikanz des Unterschiedes
1	41,32 \pm 0,063 (n=12)	41,14 \pm 0,082 (n=10)	0,099*	nein
2	41,36 \pm 0,076 (n=12)	41,25 \pm 0,106 (n=10)	0,406*	nein
3	41,25 \pm 0,069 (n=12)	41,20 \pm 0,070 (n=10)	0,619*	nein
4	41,20 \pm 0,071 (n=12)	41,19 \pm 0,099 (n=10)	0,934*	nein
5	41,13 \pm 0,070 (n=12)	41,08 \pm 0,112 (n=10)	0,974**	nein

* t-Test

** Mann-Whitney Test

Da zum ZP 0 alle Tiere gleich vorbehandelt waren und so auch kein Temperaturunterschied zwischen der Kontroll- und Versuchsgruppe zu diesem Zeitpunkt bestand, wurde zu diesem ersten Zeitpunkt kein t-Test zwischen den Temperaturwerten der beiden Behandlungsgruppen durchgeführt.

4.3.2 Die Körpertemperatur der Legehennen der LSL-Hybridlinie vor, während und nach der Immobilisierung und unter Kontrollbedingungen

4.3.2.1 Vergleich der mittleren Körpertemperatur der Stress- und der Kontrolltiere

Die statistische Überprüfung der Körpertemperatur der beiden Gruppen LSL-Kontrolle und der LSL-Stressor im Beobachtungszeitraum mithilfe einer angewandten One-Way Repeated Measures ANOVA ergab für die Kontrollgruppe keine Signifikanzen ($p=0,216$). Die Analyse der LSL-Stress-Gruppe ergab für p einen Wert von 0,004. Damit beinhaltete diese Gruppe signifikante Unterschiede, die mit der Holm-Sidak Methode genauer bestimmten Zeitpunkten zugeordnet werden konnten (s. Tab. 4.42 und Abb. 4.33). Danach sind alle Körpertemperaturwerte zu den ZP 1-5 signifikant niedriger als zum ZP 0.

Tab. 4.42: Mittlere (\pm SE) Körpertemperatur von LSL-Stresshennen im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

Körpertemperatur [°C] zum ZP 0*	Körpertemperatur [°C] zu den ZP 1-5*	Holm-Sidak Methode	p^*	Signifikanz des Unterschiedes
41,39 \pm 0,084 (n=10)	ZP 1: 41,11 \pm 0,097 (n=10)	ZP 0 vs. ZP1	<0,001	ja
41,39 \pm 0,084 (n=10)	ZP 2: 41,15 \pm 0,075 (n=10)	ZP 0 vs. ZP 2	<0,001	ja
41,39 \pm 0,084 (n=10)	ZP 3: 41,25 \pm 0,043 (n=10)	ZP 0 vs. ZP 3	0,046	ja
41,39 \pm 0,084 (n=10)	ZP 4: 41,23 \pm 0,058 (n=10)	ZP 0 vs. ZP 4	0,023	ja
41,39 \pm 0,084 (n=10)	ZP 5: 41,23 \pm 0,062 (n=10)	ZP 0 vs. ZP 5	<0,023	ja

* 0=0 min (vor dem Stress)
1=30 min (Stress-Ende)
2-5=45, 75, 105, 135 min (nach der Stresseinleitung)

* One-Way Repeated Measures ANOVA

Abbildung 4.33 zeigt den zeitabhängigen mittleren Körpertemperaturverlauf bei den Behandlungsgruppen der LSL-Linie. Dabei ist zu erkennen, dass die Kurvenverläufe

Ergebnisse

beider Behandlungsgruppe sehr ähnlich verlaufen. Dennoch ist das Absinken der Temperatur zum ZP 1 nur bei der LSL-Stress-Gruppe signifikant.

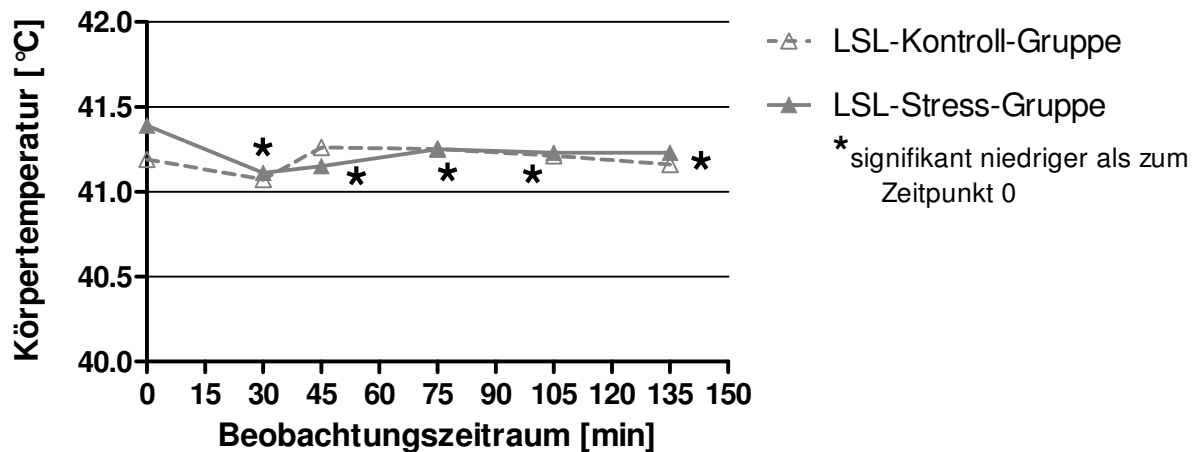


Abb. 4.33: Mittlerer zeitabhängiger Verlauf der Körpertemperatur von „gestressten“ (0-30 min) und nicht „gestressten“ (0-135 min) LSL-Hennen

4.3.2..2 Beurteilung der induzierten Stresssituation anhand der Körpertemperatur von LSL-Hennen der Kontroll- und der Stressgruppe zu den ZP 1-5

Vergleicht man innerhalb der LSL-Linie die Körpertemperatur der Kontroll- und der Stressgruppe zu den ZP 1-5, so zeigen sich keinerlei Signifikanzen. Die für jede Gruppe zu jedem Zeitpunkt durchgeführten t-Tests bzw. Mann-Whitney Rank Sum Tests ergaben Werte für p, die alle im Bereich $>0,05$ lagen (s. Tab. 4.43).

Ergebnisse

Tab. 4.43: Vergleich der mittleren (\pm SE) Poststress-Temperaturwerte mit denen der Kontrollgruppe zu den ZP 1-5

ZP	Körpertemperatur [°C] LSL-Kontroll-Gruppe	Körpertemperatur [°C] LSL-Stress-Gruppe	p	Signifikanz des Unterschiedes
1	41,07 \pm 0,099 (n=14)	41,11 \pm 0,097 (n=10)	0,790*	nein
2	41,26 \pm 0,075 (n=14)	41,15 \pm 0,075 (n=10)	0,305*	nein
3	41,25 \pm 0,057 (n=14)	41,25 \pm 0,043 (n=10)	0,977**	nein
4	41,21 \pm 0,070 (n=14)	41,23 \pm 0,058 (n=10)	0,813*	nein
5	41,16 \pm 0,053 (n=14)	41,23 \pm 0,062 (n=10)	0,446**	nein

* t-Test

** Mann-Whitney Test

4.3.3 Vergleich der behandlungsidentlichen (Kontrolle bzw. Stressor)

Körpertemperatur im Beobachtungszeitraum bei den

Hybridlinien LB und LSL

Um zu überprüfen, ob die beiden Legelinien LB und LSL bezüglich der Körpertemperatur unterschiedliche Basalwerte aufweisen, wurden die zum ZP 0 ermittelten Temperaturwerte ebenfalls einem t-Test unterzogen. Dieser Test ergab jedoch keine Signifikanz ($p=0,292$). Somit ist davon auszugehen, dass sich beide Linien nicht in der basalen Körpertemperatur unterscheiden. Abbildung 4.34 zeigt die mittlere Körpertemperatur der beiden Behandlungen jeweils beider Linien in Form eines Säulendiagrammes.

Ergebnisse

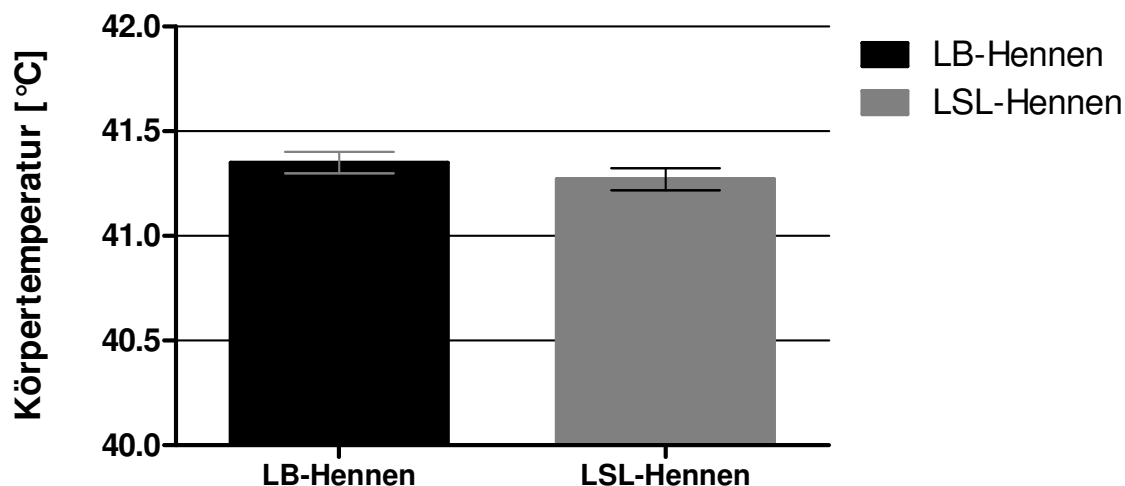


Abb. 4.34: Vergleich der mittleren Körpertemperatur bei LB- und LSL-Hennen zum ZP 0 als Säulendiagramm (mit Angabe der Standardfehler)

Weiterhin war von Interesse, ob sich im Vergleich der Körpertemperatur der beiden Linien nach Durchführen der Immobilisierung, also zu ZP 1, ein signifikanter Unterschied ergibt. Eine One-Way ANOVA ergab jedoch keine Signifikanz. Tabelle 4.44 vermittelt die zahlenmäßigen Ergebnisse dieser statistischen Überprüfung. Abbildung 4.35 zeigt die mittleren Körpertemperaturen aller vier Tiergruppen zum ZP 1 als Säulendiagramm.

Tab. 4. 44: Vergleich der mittleren (\pm SE) Körpertemperatur bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ LB- bzw. LSL-Hennen zum ZP 1

Gruppe	Körpertemperatur [°C]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
LB Kontrolle	41,32 \pm 0,064 (n=12)	0,200	nein
LB Stressor	41,14 \pm 0,082 (n=10)		
LSL Kontrolle	41,07 \pm 0,099 (n=14)		
LSL Stressor	41,11 \pm 0,097 (n=10)		

* One-Way ANOVA

Ergebnisse

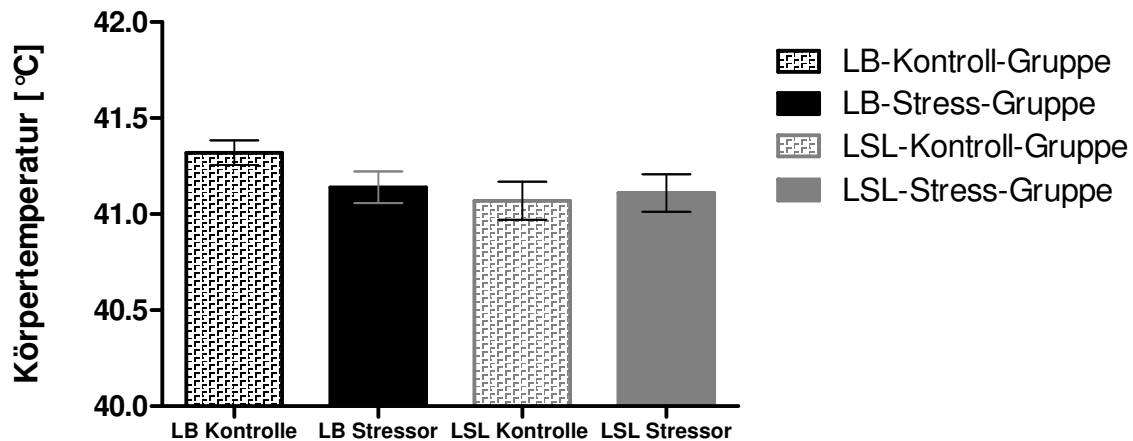


Abb. 4.35: Vergleich der behandlungs- (Kontrolle und Stressor) und der linien- (LB und LSL) spezifischen Körpertemperatur zum ZP 1 als Säulendiagramm (mit Angabe der Standardfehler)

Wie zu erwarten lieferte auch der Vergleich der mittleren Körpertemperatur zu den noch folgenden Blutentnahmezeitpunkten (2-5) keinerlei Signifikanzen. Die zu jedem Zeitpunkt durchgeführte One-Way ANOVA bzw. Kruskal-Wallis One-Way ANOVA ergab immer einen p-Wert $>0,05$. Dies bedeutet, dass sich die beiden Legelinien zu keinem Zeitpunkt innerhalb des Beobachtungszeitraumes in ihrer Körpertemperatur signifikant unterschieden.

Die folgende Abbildung 4.36 demonstriert den mittleren zeitlichen Verlauf der Körpertemperatur (s. Tab. 4.45) in beiden Linien bei jeweils beiden Behandlungen über den gesamten Beobachtungszeitraum. Interessant: Die Bandbreite der Variation der Körpertemperatur der vier Tiergruppen zum ZP 0 ist größer als zu jedem anderen Zeitpunkt.

Ergebnisse

Tab. 4.45: Mittlere (\pm SE) Körpertemperatur bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und LSL-Hybridlinie im zeitlichen Verlauf von ZP 0 (=0 min) bis ZP 5 (=135 min)

ZP	Körpertemperatur [°C] LB-Kontroll-Gruppe	Körpertemperatur [°C] LB-Stress-Gruppe	Körpertemperatur [°C] LSL-Kontroll-Gruppe	Körpertemperatur [°C] LSL-Stress-Gruppe
0	41,24 \pm 0,067 (n=12)	41,48 \pm 0,059 (n=10)	41,19 \pm 0,062 (n=14)	41,39 \pm 0,084 (n=10)
1	41,32 \pm 0,064 (n=12)	41,14 \pm 0,082 (n=10)	41,07 \pm 0,099 (n=14)	41,11 \pm 0,097 (n=10)
2	41,36 \pm 0,076 (n=12)	41,25 \pm 0,106 (n=10)	41,26 \pm 0,075 (n=14)	41,15 \pm 0,075 (n=10)
3	41,25 \pm 0,069 (n=12)	41,20 \pm 0,070 (n=10)	41,25 \pm 0,057 (n=14)	41,25 \pm 0,043 (n=10)
4	41,20 \pm 0,071 (n=12)	41,19 \pm 0,099 (n=10)	41,21 \pm 0,070 (n=14)	41,23 \pm 0,058 (n=10)
5	41,13 \pm 0,070 (n=12)	41,08 \pm 0,112 (n=10)	41,16 \pm 0,053 (n=14)	41,23 \pm 0,062 (n=10)

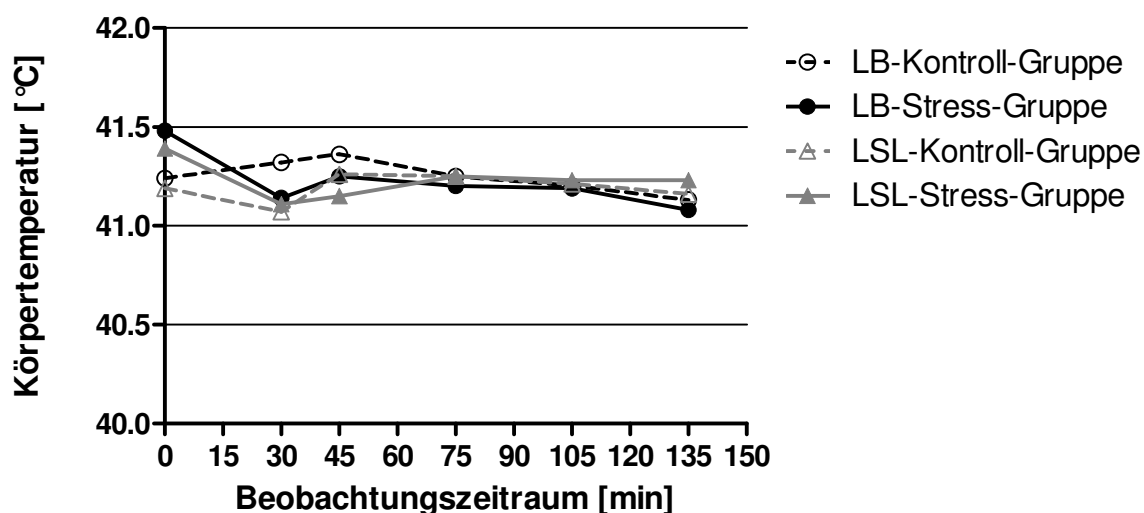


Abb. 4.36: Verlauf der mittleren Körpertemperatur über alle 6 Meßzeitpunkte bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und LSL-Hybridlinie

4.4 Stress-Analyse mittels Verhaltensuntersuchungen

4.4.1 Ergebnisse der Trainingsläufe 1-3

Da alle Verhaltensuntersuchungen immer aus zwei Abschnitten (Training und eigentliche Messungen) bestanden, wird hier zuerst das Training im Labyrinth, das sich über drei Tage erstreckte, ausgewertet. Weil es in dieser Phase der Untersuchung noch keine Aufteilung der Tiere in die Kontroll- und Stressgruppe gab, wurden einerseits die trainingsinduzierten Ergebnisse innerhalb der LB- und der LSL-Legelinie analysiert. Andererseits fand ein Vergleich dieser Ergebnisse aus beiden Legelinien statt.

Da sich der Lernerfolg im Training unter anderem auch auf den Futterverbrauch im Labyrinth auswirkte, ist dies der erste Parameter, der genauer verfolgt wird. Dabei wurde zunächst der Futterverbrauch (Weizen in g/kg Körpergewicht) und dann auch die Zeit, welche die Tiere im Labyrinth direkt mit Fressen verbracht haben, erfasst. Anhand der Fresszeit (in min) war aber auch ein Urteil darüber möglich, wie zügig die Hennen den Futternapf erreichten, um daraus Weizen aufzunehmen.

4.4.1.1 Hybridlinienspezifischer Futterverbrauch im Y-Labyrinth an den Trainingstagen 1-3

4.4.1.1.1 LB-Hybridlinie

Die statistische Erhebung innerhalb der LB-Legelinie mittels einer Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks zeigte beim Futterverbrauch zwischen den Trainingstagen 1-3 signifikante Unterschiede ($p=0,010$) auf. In einem nachgestellten Test (Dunns Methode) wurde der signifikante Mengenunterschied zwischen den Trainingstagen 2 und 3 entdeckt. In Tabelle 4.46 sind die Ergebnisse hierzu im Detail aufgelistet.

Ergebnisse

Tab. 4.46: Mittlerer (\pm SE) Futtermittelverzehr während der Trainingstage 1-3 bei Tieren der LB-Linie

Trainingstag	Weizenverzehr [g/kg KG]	Dunns Methode	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	10,92 \pm 1,068 (n=20)	T: 1 vs. 2	>0,05	nein
2	10,34 \pm 1,065 (n=20)	T: 1 vs. 3	>0,05	nein
3	12,77 \pm 0,795 (n=20)	T: 2 vs. 3	<0,05	ja

* Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks

Wie der Tabelle zu entnehmen ist, hatten die Hennen am zweiten Tag einen leichten, Einbruch (-5 %) im Futtermittelverzehr, steigerten sich aber am dritten Tag auf einen neuen Höchstwert, sodass dadurch im Vergleich 2 vs. 3 der signifikante Unterschied zustande kam.

4.4.1.1.2 LSL-Hybridlinie

Die statistische Vorgehensweise war für den Futtermittelverzehr der Tiere der LSL-Linie identisch. Eine One-Way Repeated Measures ANOVA errechnete einen Wert für p von 0,817. Offensichtlich existiert kein signifikanter Unterschied bei den Verzehrsmengen der drei Trainingstage. Allerdings zeigen die Zahlen in Tabelle 4.47, dass auch die LSL-Gruppe am zweiten Trainingstag einen Verzehrseinbruch (-8 %) hatte. Jedoch konnte durch den Verzehrzanstieg zum dritten Trainingstag der hohe Verzehr des ersten Tages noch nicht übertroffen werden.

Tab. 4.47: Mittlerer (\pm SE) Futtermittelverzehr während der Trainingstage 1-3 bei Tieren der LSL-Linie

Trainingstag	Weizenverzehr [g/kg KG]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	13,23 \pm 1,580 (n=20)	0,817	nein
2	12,19 \pm 1,544 (n=20)		
3	12,88 \pm 2,066 (n=20)		

* One-Way Repeated Measures ANOVA

Ergebnisse

4.4.1.1.3 Vergleich zwischen LB- und LSL-Linie

Um linienspezifische Unterschiede im Futterverbrauch statistisch bewerten zu können, wurden die Ergebnisse jedes Trainingstages mit einem t-Test bzw. einem Mann-Whitney Rank Sum Test verglichen. Die folgende Tabelle (s. Tab. 4.48) beinhaltet die gefundenen Resultate.

Tab. 4.48: Vergleich des mittleren (\pm SE) Futterverzehrs während der Trainingstage 1-3 bei Hennen der LB- und der LSL-Linie

Trainingstag	Weizenverzehr [g/kg KG] LB-Hennen	Weizenverzehr [g/kg KG] LSL-Hennen	p	Signifikanz des Unterschiedes
1	10,92 \pm 1,068 (n=20)	13,23 \pm 1,580 (n=20)	0,543**	nein
2	10,34 \pm 1,065 (n=20)	12,19 \pm 1,544 (n=20)	0,330*	nein
3	12,77 \pm 0,795 (n=20)	12,88 \pm 2,066 (n=20)	0,989**	nein

* t-Test

** Mann-Whitney Test

Wie auch in Abbildung 4.37 zu erkennen ist, hatten die LSL-Hennen vorrangig am ersten und zweiten Trainingstag deutlich höhere Verzehrswerte (+21 % bzw. +18 %). Statistisch war dieser Unterschied zu den LB-Hennen jedoch nicht signifikant. Die LB-Hennen erreichten aber an Tag 3 annähernd die Verzehrsmenge der LSL-Gruppe.

Ergebnisse

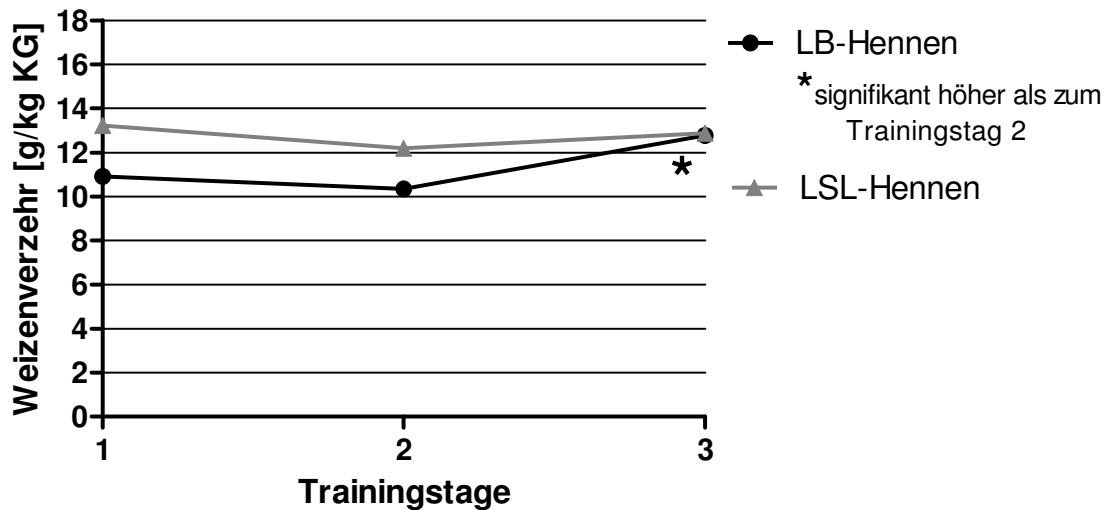


Abb. 4.37: Vergleich des mittleren Futtermittelsverzehrs der Hennen der LB- und der LSL-Linie während der Trainingstage 1-3

4.4.1.2 Hybridlinienspezifische Fresszeiten

Der Parameter „Fresszeit“ soll angeben, wie lange (in min) die Hennen während der Trainingstage 1-3 mit dem Picken von Weizenkörnern beschäftigt waren. Die Tiere hatten im Y-Labyrinth pro Trial (entspricht einem Lauf von insgesamt zehn Läufen pro Tag) 15 Sekunden Zeit, um Weizen aufzunehmen. Somit wäre pro Tag insgesamt eine maximale Fresszeit von 2,5 min geblieben. Da man von diesem Wert jedoch die Zeit für den kurzen direkten oder indirekten Weg (über den nicht belohnenden Arm) zum Fressnapf abziehen muss, fällt dieser Wert tatsächlich etwas kleiner aus und war stark beeinflusst durch Motivation und Erfolg.

4.4.1.2.1 LB-Hybridlinie

Die statistische Testung der Fresszeiten von LB-Hennen während der drei Trainingstage erfolgte mit einer Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks. Dies ergab für diesen Parameter innerhalb der LB-Legelinie erneut einen signifikanten Unterschied. Der p-Wert lag bei 0,015. Bei weitergehender Überprüfung (Dunns Methode) zeigte sich eine Signifikanz zwischen Tag 2 und 3. Einen

Ergebnisse

detaillierten Einblick in diese Testung gewährt Tabelle 4.49. Danach fällt die mittlere Fresszeit an Tag 2 etwas ab und erreicht an Tag 3 die längste Dauer. Sehr deutlich wird dies in Abbildung 4.38.

Tab. 4.49: Mittlere (\pm SE) Fresszeit während der Trainingstage 1-3 bei Tieren der LB-Linie

Trainingstag	Fresszeit [min]	Dunns Methode	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	1,02 \pm 0,070 (n=20)	T: 1 vs. 2	>0,05	nein
2	0,99 \pm 0,084 (n=20)	T: 1 vs. 3	>0,05	nein
3	1,28 \pm 0,061 (n=20)	T: 2 vs. 3	<0,05	ja

* Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks

4.4.1.2.2 LSL-Hybridlinie

Die selben statistischen Tests für die mittlere Fresszeit der LSL-Gruppe zeigten keine signifikanten Unterschiede an. Eine Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks ermittelte für p einen Wert von 0,951 (s. Tab. 4.50).

Tab. 4.50: Mittlere (\pm SE) Fresszeit während der Trainingstage 1-3 bei Tieren der LSL-Linie

Trainingstag	Fresszeit [min]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	1,01 \pm 0,088 (n=20)	0,951	nein
2	0,95 \pm 0,102 (n=20)		
3	0,96 \pm 0,135 (n=20)		

* Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks

Ergebnisse

4.4.1.2.3 Vergleich zwischen LB- und LSL-Linie

Der Vergleich der Fresszeiten an den Trainingstagen 1-3 bei Hennen der LB- und der LSL-Linie erbrachte keine signifikanten Unterschiede. So zeigt die Tabelle 4.51 und die Abbildung 4.38 tatsächlich, dass an den Trainingstagen 1 und 2 beide Linien ähnliche Fresszeiten aufwiesen. An Tag 3 ist jedoch zahlenmäßig zu erkennen, dass die LB-Hennen eine längere Fresszeit beanspruchten. Daraus kann man folgern, dass sie nach dem Öffnen der Startbox schneller zum Fressen kamen. Fraglich ist allerdings, ob sie dabei schneller liefen, oder ob sie weniger Fehler machten und direkt ohne Umweg über den falschen Arm am belohnenden Napf ankamen.

Da jedoch die LSL-Hennen annähernd den selben Futterverzehr wie die LB-Hennen am Tag 3 hatten (s. Tab. 4.48), müsste dies bedeuten, dass die LSL-Hybriden in kürzerer Zeit mehr Weizen pickten, und so eine höhere Fressgeschwindigkeit (x Gramm Weizen pro Minute) aufwiesen. Ein Vergleich der linienspezifischen Fressgeschwindigkeiten (s. Abb. 4.39) scheint diese Vermutung zu bestätigen. Die LSL-Tiere zeigten danach pro min zumindest die Tendenz (nicht signifikant) eines höheren Weizenverbrauches als die LB-Hennen.

Tab. 4.51: Vergleich der mittleren (\pm SE) Fresszeit während der Trainingstage 1-3 bei Hennen der LB- und der LSL-Linie

Trainingstag	Fresszeit [min] LB-Hennen	Fresszeit [min] LSL-Hennen	p	Signifikanz des Unterschiedes
1	1,02 \pm 0,070 (n=20)	1,01 \pm 0,088 (n=20)	0,918*	nein
2	0,99 \pm 0,084 (n=20)	0,95 \pm 0,102 (n=20)	0,722*	nein
3	1,28 \pm 0,061 (n=20)	0,96 \pm 0,135 (n=20)	0,152**	nein

* t-Test

** Mann-Whitney Test

Ergebnisse

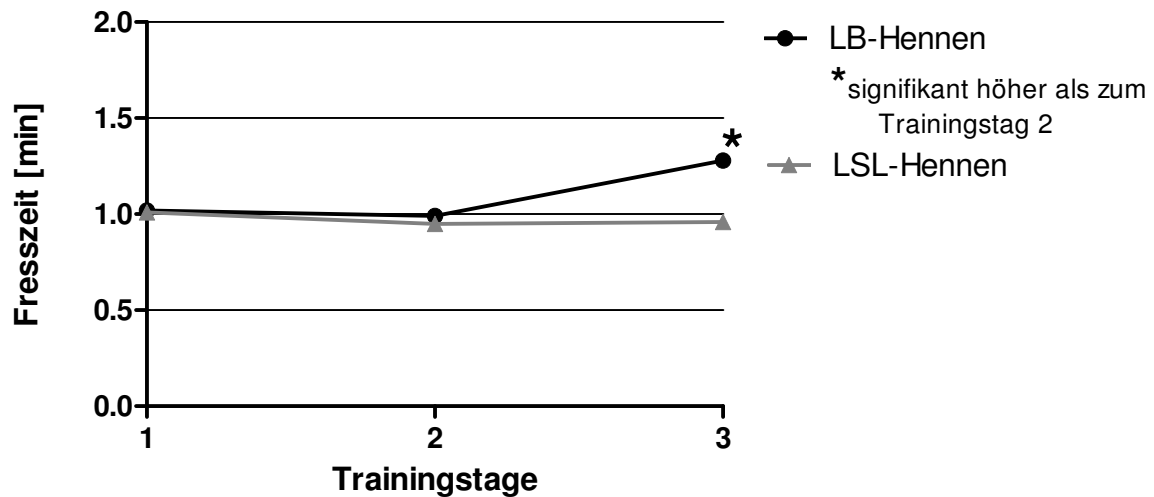


Abb. 4.38: Vergleich der mittleren Fresszeit der Hennen der LB- und der LSL-Linie während der Trainingstage 1-3

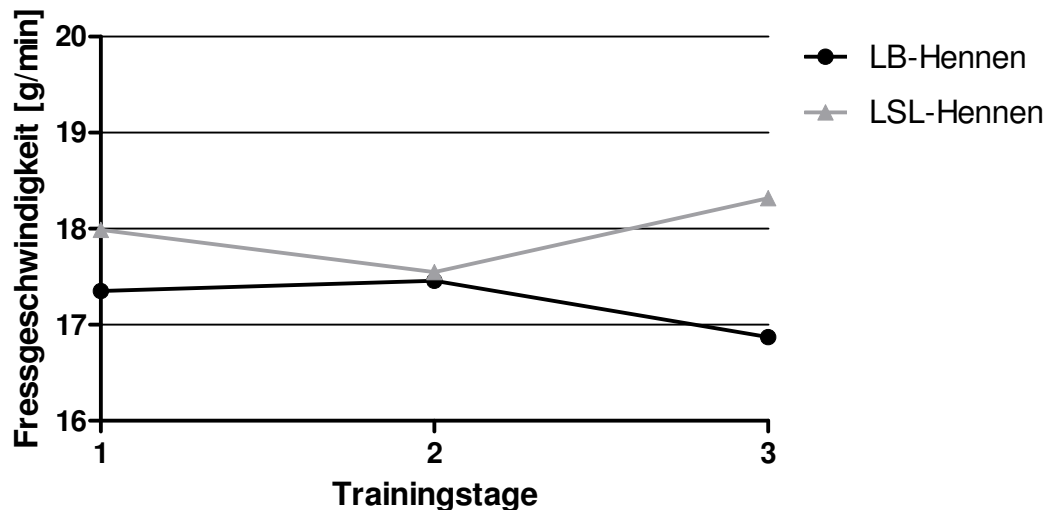


Abb. 4.39: Vergleich der mittleren Fressgeschwindigkeit der Hennen der LB- und der LSL-Linie während der Trainingstage 1-3

4.4.1.3 Hybridlinienspezifische kognitive Leistungen

Wie bereits erwähnt, wurden alle Versuchshühner vor den eigentlichen Verhaltensuntersuchungen einem Training unterzogen. So wurden sie einerseits in der ersten Trainingswoche an das Y-Labyrinth gewöhnt, andererseits sollte durch die von Tag zu Tag wechselnden Aufgaben ein vorbereitendes Training für den win-shift-

Versuch in der zweiten Woche stattfinden. Da in dieser Trainingswoche bereits das Verhalten der Legehühner im Labyrinth beobachtet und protokolliert wurde, war es möglich, erste Erkenntnisse über Aufmerksamkeit und Gedächtnisleistung der Tiere zu erhalten. Beurteilt wurden diverse Parameter sowohl innerhalb einer Linie, als auch hinsichtlich eventueller Unterschiede zwischen beiden Linien. Ein erster Anhaltspunkt war die Anzahl der Läufe im Y-Labyrinth, bei denen die Hennen unmittelbar zum belohnenden Futternapf steuerten. Nicht gezählt wurden hierbei die Läufe, bei denen die Hennen das Futter im nicht belohnenden Arm suchten und auch die Trials, bei denen die Hennen, nach einem Fehlversuch, ihren Fehler korrigierten und zur belohnenden Seite wechselten. Weiterhin wurde die Aufmerksamkeit am Trainingstag 1 und die Gedächtnisleistung über 24 Stunden zu Beginn von Trainingstag 2 und 3 erfasst.

4.4.1.3.1 Anzahl der unmittelbar richtigen Läufe im Labyrinth

Die Läufe galten dann als „richtig“ und wurden gezählt, wenn die Tiere nach dem Verlassen der Startbox ohne Umwege direkt den belohnenden Arm des Labyrinths aufsuchten. Da es pro Tag theoretisch 10 mal möglich gewesen wäre, die belohnende Seite auf Anhieb richtig zu besuchen, hätten die Tiere über die drei Trainingstage gesehen maximal 30 mal die Chance gehabt, den richtigen Arm zu wählen. Die Bewertung dieser Leistung fand abermals innerhalb einer Legelinie und im Vergleich zwischen den Hybridlinien statt.

4.4.1.3.1.1 LB- Hybridlinie

Die statistische Überprüfung (Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks) der Läufe innerhalb der LB-Linie erbrachte keine Signifikanz ($p=0,089$). Die LB-Hennen erbrachten also an den drei Trainingstagen nur tendenziell unterschiedliche Leistungen. Tabelle 4.52 vermittelt eine Übersicht zu diesen Ergebnissen.

Ergebnisse

Tab. 4. 52: Mittlere (\pm SE) Anzahl unmittelbar richtiger Läufe während der Trainingstage 1-3 bei Tieren der LB-Linie

Trainingstag	Anzahl richtiger Läufe	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	7,65 \pm 0,509 (n=20)	0,089	nein
2	5,90 \pm 0,589 (n=20)		
3	6,50 \pm 0,659 (n=20)		

* Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks

Berücksichtigt man, dass den LB-Hennen am ersten Tag ein roter Signalnapf als Hilfestellung diente, so ist es verständlich, dass sie sich zahlenmäßig häufiger für den richtigen Arm entschieden haben. Trainingstag 2 hingegen demonstriert eine gewisse „Hilflosigkeit“, indem die Tiere die geringste Zahl richtiger Läufe aufweisen. An Tag 3 erzielten sie dagegen wieder größeren Erfolg, wahrscheinlich trainingsbedingt. Der Einbruch an Tag 2 erklärt möglicherweise auch den Einbruch des Futterverbrauchs an Trainingstag 2 (s. Tab. 4.46 und Abb. 4.37).

4.4.1.3.1.2 LSL-Hybridlinie

Für die Anzahl richtiger Läufe innerhalb der LSL-Hennen lieferte die One-Way Repeated Measures ANOVA keine Signifikanz ($p=0,079$). Dies bedeutet, dass sich die LSL-Hennen bezüglich der Zahl richtiger Läufe an den Trainingstagen 1-3 nicht signifikant unterscheiden (s. Tab. 4.53). Etwas unerwartet ist jedoch, dass sich die Zahl der Läufe mit zunehmendem Training tendenziell verschlechterte.

Ergebnisse

Tab. 4.53: Mittlere (\pm SE) Anzahl unmittelbar richtiger Läufe während der Trainingstage 1-3 bei Tieren der LSL-Linie

Trainingstag	Anzahl richtiger Läufe	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	7,75 \pm 0,403 (n=20)	0,079	nein
2	6,05 \pm 0,613 (n=20)		
3	5,95 \pm 0,705 (n=20)		

* One-Way Repeated Measures ANOVA

4.4.1.3.1.3 Vergleich zwischen LB- und LSL-Hennen

Um zu überprüfen, ob sich die Hennen der beiden Hybridlinien in der Häufigkeit des direkt richtig gewählten Y-Armes im Labyrinth signifikant voneinander unterscheiden, wurden ein t-Test und der Mann-Whitney Rank Sum Test durchgeführt. Deren Ergebnisse sind in der Tabelle 4.54 aufgeführt. Sie besagen, dass es an den drei Trainingstagen keinerlei Anzeichen einer Signifikanz gibt. Abbildung 4.40 zeigt recht prägnant, wie nah beide Legehybridlinien in der Zahl richtiger Läufe beieinander liegen. Offensichtlich ist auch, dass bei beiden Hybridlinien nach der Hilfestellung mit dem roten Signalnapf an Tag 1, zunächst ein Leistungseinbruch an Tag 2 erfolgte. Nur bei den LB-Hennen verbesserte sich die Zahl der richtigen Läufe zumindest tendenziell an Tag 3.

Tab. 4.54: Vergleich der mittleren (\pm SE) richtigen Läufe während der Trainingstage 1-3 bei Hennen der LB- und der LSL-Linie

Trainingstag	Anzahl richtiger Läufe LB-Hennen	Anzahl richtiger Läufe LSL-Hennen	p	Signifikanz des Unterschiedes
1	7,65 \pm 0,509 (n=20)	7,75 \pm 0,403 (n=20)	0,989**	nein
2	5,90 \pm 0,589 (n=20)	6,05 \pm 0,613 (n=20)	0,861*	nein
3	6,50 \pm 0,659 (n=20)	5,95 \pm 0,705 (n=20)	0,552**	nein

* t-Test

** Mann-Whitney Test

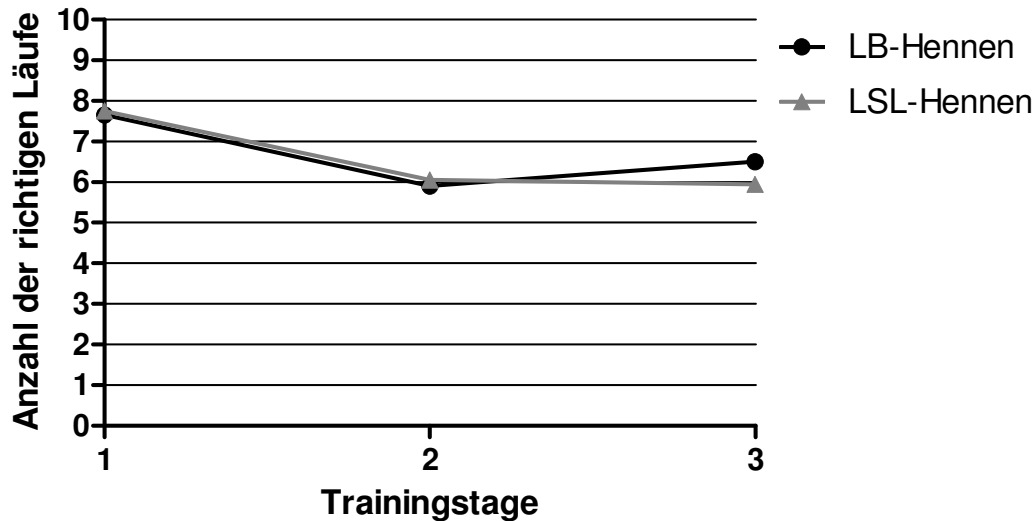


Abb. 4.40: Vergleich der mittleren Anzahl der richtigen Läufe in den belohnenden Y-Arm des Labyrinths der Hennen der LB- und der LSL-Linie während der Trainingstage 1-3

4.4.1.3.2 Aufmerksamkeit am 1. Trainingstag

Am ersten Trainingstag waren zehn reguläre Trials im Y-Labyrinth durchzuführen. Bei den ersten neun Trials war stets die gleiche Seite mit dem rot markierten Napf belohnt worden. Um nun die Aufmerksamkeit der Tiere zu testen, wurde im Trial 10 die Seite mit Signalnapf und die Belohnung gewechselt. Für die Tiere galt der Aufmerksamkeitstest als bestanden, wenn sie in diesem 10. Lauf auf Anhieb die Seite mit dem roten Napf wählten. Die Säulendiagramme in Abbildung 4.41 und 4.42 zeigen die Zahl der Tiere in beide Linien, die aufmerksam (ja) bzw. nicht aufmerksam (nein) waren. Es wird ersichtlich, dass 13 LB-Tiere (65 %), aber nur 9 LSL-Tiere (45 %) den Test im 10. Trial bestanden haben. Das heißt, nicht aufmerksam waren nur 7 LB-Hennen (35 %) bzw. 11 LSL-Hennen (55 %).

Ergebnisse

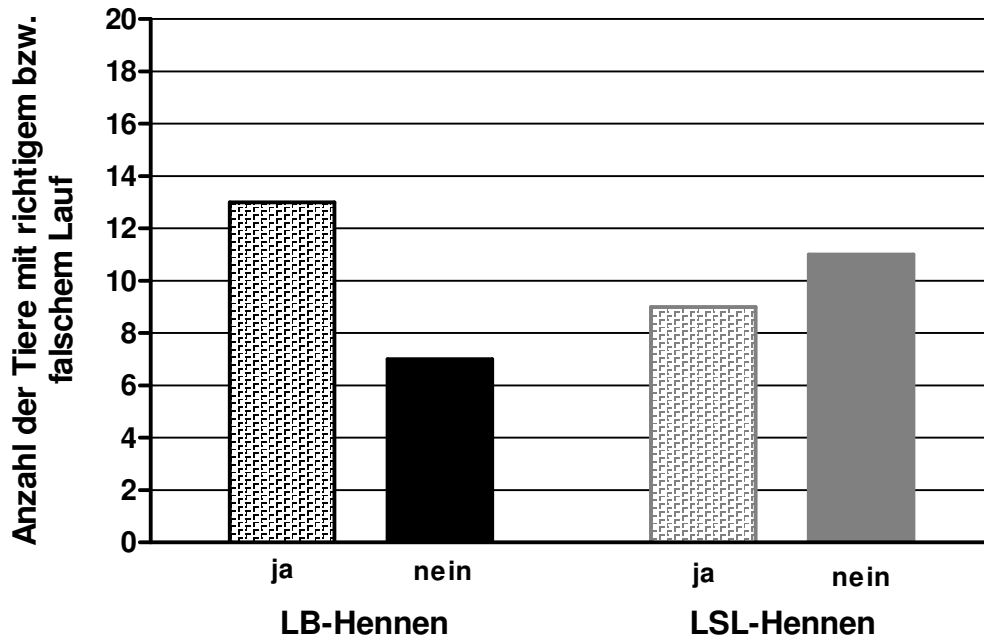


Abb. 4.41: Anzahl der Hennen der beiden Hybridlinien, die im 10. Lauf des 1. Trainingstages im Labyrinth richtig (=ja) oder falsch (=nein) gelaufen sind

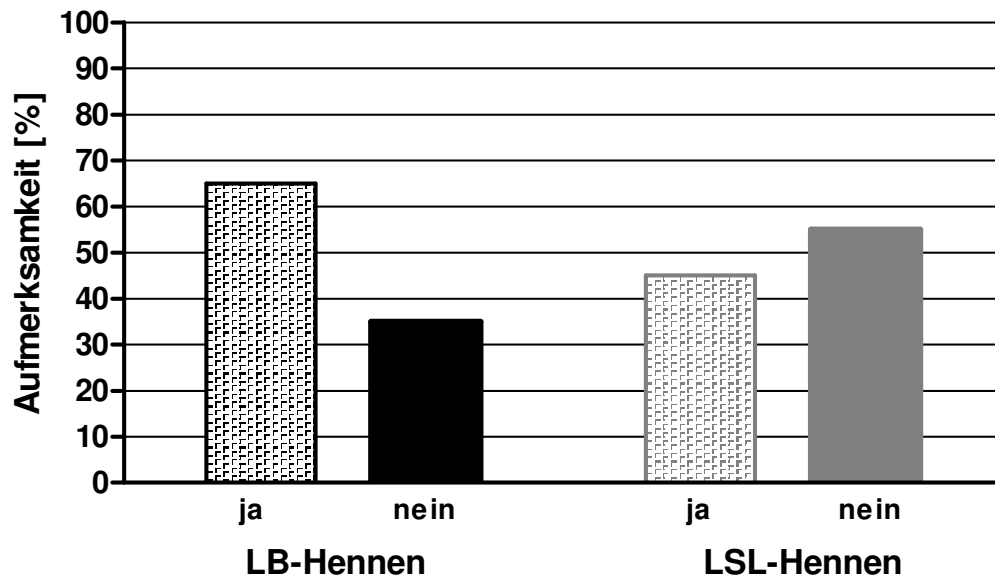


Abb. 4.42: Vorhandene (=ja) bzw. nicht vorhandene (=nein) Aufmerksamkeit (in % der Tiere) der Hennen der LB- und der LSL-Linie am 1. Trainingstag

Ergebnisse

4.4.1.3.3 Gedächtnisleistung der Hennen am 2. Trainingstag

Nachdem am Trainingstag 2 der Futternapf mit Weizen wieder auf der Seite stand, auf der er an Tag 1 im letzten Trial auch zu finden war, war es möglich sich über die Zahl der richtigen Läufe (=Gedächtnisleistung) der Tiere einen Eindruck zu verschaffen. Zeitlich gesehen wird hier die Gedächtnisleistung über einen Zeitraum von ca. 24 Stunden erfaßt. Die Auswertung erfolgte ähnlich der Auswertung des Aufmerksamkeitstestes. Allerdings konnte der Test nur als bestanden gewertet werden, wenn die Tiere bereits am ersten Trainingstag beim letzten (=10.) Lauf den richtigen Arm wählten und sich am zweiten Tag im ersten Lauf ebenfalls für die richtige Seite entschieden. Die Abbildungen 4.43 und 4.44 vermitteln rasch einen eindeutigen Eindruck von den erzielten Ergebnissen.

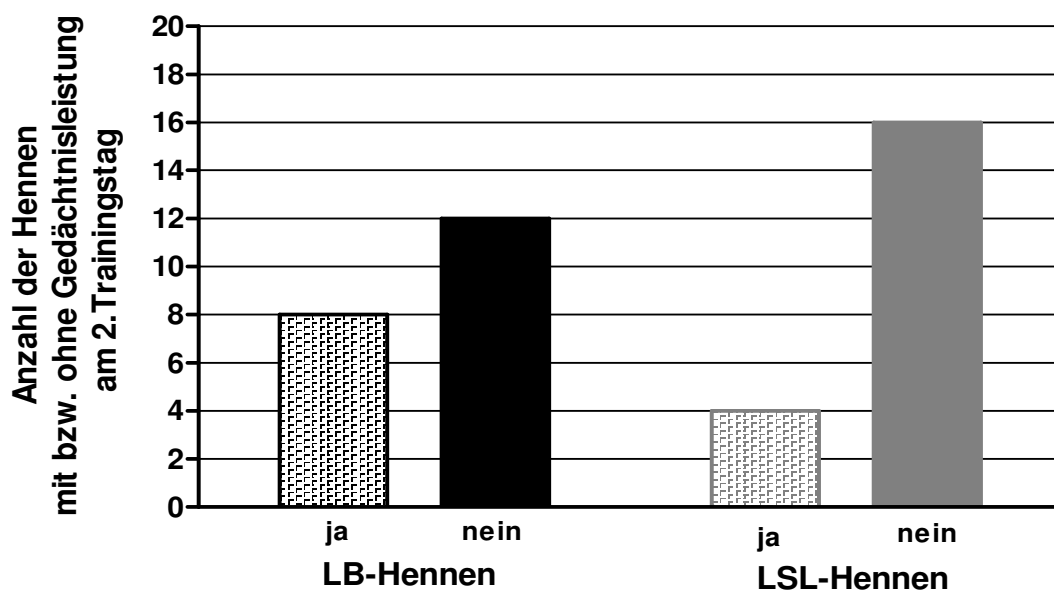


Abb. 4.43: Anzahl der Hennen der beiden Hybridlinien, die am 1. und 2. Trainingstag (=Gedächtnisleistung) richtig (=ja) bzw. nicht richtig (=nein) gelaufen sind

Ergebnisse

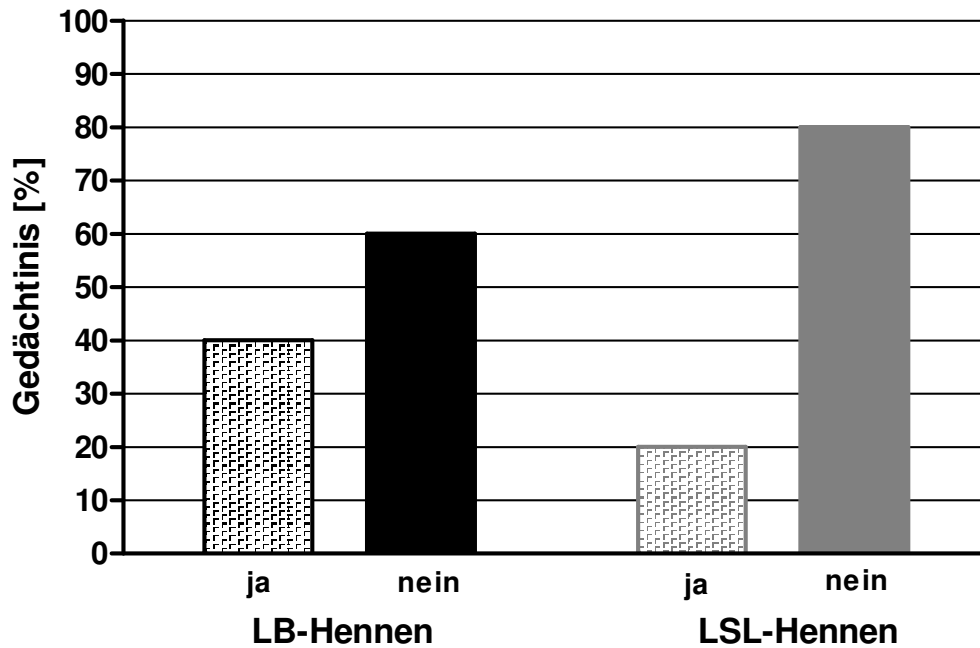


Abb. 4.44: Vorhandene (=ja) bzw. nicht vorhandene (=nein) Gedächtnisleistung (in % der Tiere) der Hennen der LB- und der LSL-Linie am 2. Trainingstag

Auch hier ist wieder anzumerken, dass die LB-Hennen mit 8 erfolgreichen Tieren (40 %) deutlich besser abschnitten, als die LSL-Hennen mit nur 4 erfolgreichen Tieren (20 %). Die übrigen Tiere, bei der LB-Linie waren es 12 Hennen (60 %) bzw. bei der LSL-Linie waren es 16 Hennen (80 %), zeigten nicht die erwartete Gedächtnisleistung.

4.4.1.3.4 Gedächtnisleistung der Hennen am 3. Trainingstag

Analog zum Vorgehen am ersten und zweiten Trainingstag konnte die Gedächtnisleistung auch am dritten Trainingstag erfaßt werden. Da die Tiere am zweiten Trainingstag, abgesehen vom ersten Trial, 9 mal stets auf die andere Seite trainiert wurden, konnte man davon ausgehen, dass die Hennen in der Wahl dieser Seite mehr Sicherheit bekamen und so die belohnende Seite auch für den dritten Tag besser im Gedächtnis behielten. Die Ergebnisse an Tag 3 sind in den Abbildungen 4.45 und 4.46 festgehalten. Tatsächlich haben sich beide Linien gegenüber dem zweiten Trainingstag deutlich verbessert. Denn an Tag 3 konnten

Ergebnisse

sowohl in der LB- als auch in der LSL-Linie jeweils 12 Tiere (60 %) ein positives Ergebnis liefern. Jeweils 8 Tiere (40 %) hingegen haben diesen Gedächtnistest nicht bestanden. Auffällig ist auch, dass die LSL-Tiere am dritten Tag deutlich besser abschnitten als am zweiten Trainingstag, an dem nur 4 Tiere (20 %) den Test bestanden haben.

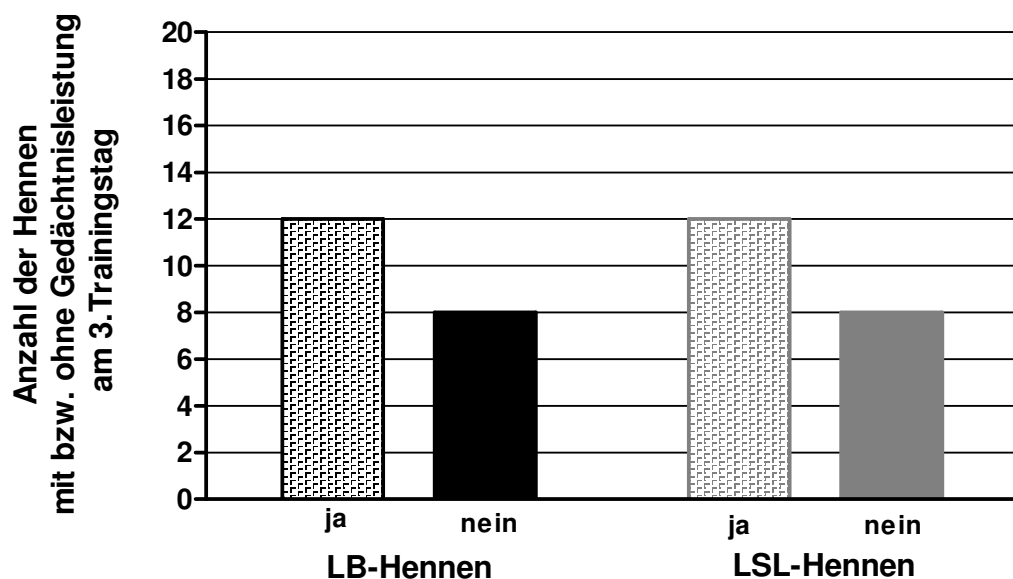


Abb. 4.45: Anzahl der Hennen der beiden Hybridlinien, die am 2. und 3. Trainingstag (=Gedächtnisleistung) richtig (=ja) bzw. nicht richtig (=nein) gelaufen sind

Ergebnisse

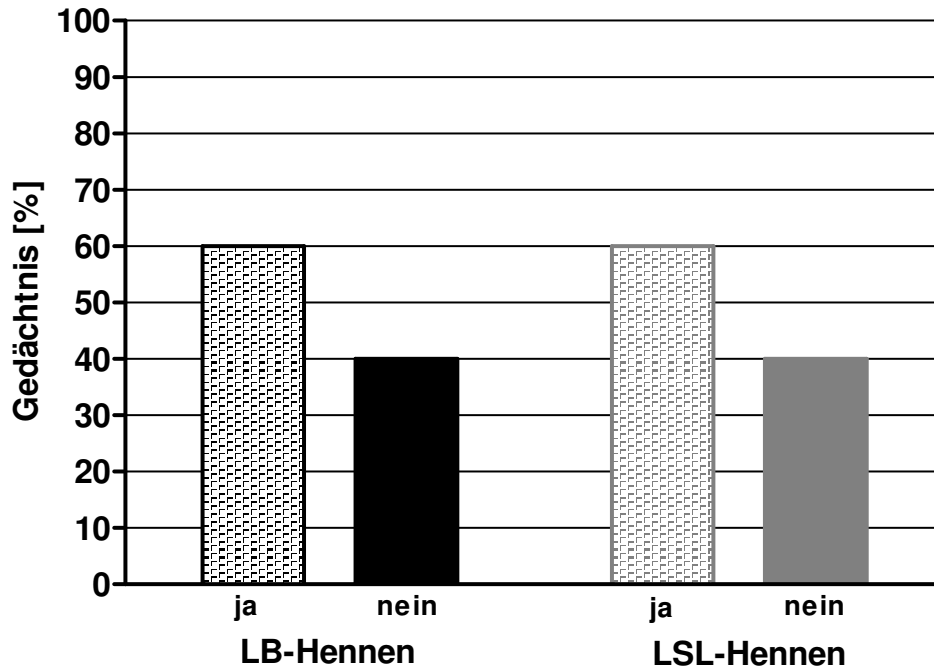


Abb. 4.46: Vorhandene (=ja) bzw. nicht vorhandene (=nein) Gedächtnisleistung (in % der Tiere) der Hennen der LB- und der LSL-Linie am 3. Trainingstag

4.4.2 Ergebnisse der Lernversuche an den Versuchstagen 1-3

In diesem Versuchsabschnitt sollten die Legehennen die win-shift-Methode erlernen. Dabei wurde den Tieren am ersten Versuchstag noch eine Hilfestellung gegeben, am Versuchstag 2 jedoch wurde das Prinzip von win-shift ohne jegliche zusätzliche Hilfe angewandt. Außerdem wurden, in Analogie zu den Versuchen in den Abschnitten 4.1-4.3 mit Blutentnahmen, Tiere der beiden Hybridlinien in jeweils eine Kontroll- und Stressgruppe (körperliche Fixation) eingeteilt. Die beiden linienspezifischen Kontrollgruppen saßen stattdessen in einer abgedunkelten Transportbox aus Karton. Zeitlich geschah die Zuteilung der Tiere in Kontroll- und Stressgruppe unmittelbar vor Versuch 1. An den beiden anderen Versuchstagen waren die Tiere ausschließlich im Labyrinth beschäftigt. Über alle drei Versuchstage wurden wiederum vier Tiergruppen hinsichtlich möglicher Auswirkungen der körperlichen Immobilisierung beurteilt.

Ergebnisse

4.4.2.1 Behandlungs- und hybridlinienspezifischer Futterverbrauch im Y-Labyrinth an den Versuchstagen 1-3

Wie schon während des Trainings sollte der Futterverbrauch auch bei den eigentlichen Lern- und Verhaltensversuchen Aufschlüsse über den Erfolg der Legehennen im Y-Labyrinth geben. Wieder wurden der Futterverbrauch (Weizen in g pro kg KG) und die dafür benötigte Fresszeit (in min) als Parameter verwendet.

4.4.2.1.1 LB-Hybridlinie

Mittels einer One-Way Repeated Measures ANOVA wurde für den Futterverbrauch der LB-Kontroll-Gruppe an den drei Versuchstagen ein p von 0,904 ermittelt (s. Tab. 4.55a)). Das heißt, es gibt keinen signifikanten Unterschied im Verzehr an den drei Tagen.

Für die LB-Stress-Gruppe konnte jedoch ein Wert für p von 0,007 ermittelt werden (s. Tab. 4.55b)). Mittels der Holm-Sidak Methode konnte aufgezeigt werden, zwischen welchen Versuchen sich der Futterverzehr signifikant unterschied. Die Abbildung 4.47 zeigt den signifikanten Verlauf.

Tab. 4.55a): Mittlerer (\pm SE) Futterverzehr während der Versuchstage 1-3 bei Kontrolltieren der LB-Linie

Versuchstag	Weizenverzehr [g/kg KG]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	11,37 \pm 1,446 (n=10)	0,904	nein
2	12,15 \pm 1,940 (n=10)		
3	11,92 \pm 1,573 (n=10)		

* One-Way Repeated Measures ANOVA

Ergebnisse

Tab. 4.55b): Mittlerer (\pm SE) Futterverzehr während der Versuchstage 1-3 bei Stresstieren der LB-Linie

Versuchstag	Weizenverzehr [g/kg KG]	Holm-Sidak Methode	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	10,88 \pm 1,120 (n=10)	V: 1 vs. 2	0,008	ja
2	13,58 \pm 1,300 (n=10)	V: 1 vs. 3	0,004	ja
3	13,91 \pm 1,503 (n=10)	V: 2 vs. 3	0,722	nein

* One-Way Repeated Measures ANOVA

4.4.2.1.2 LSL-Hybridlinie

Die statistische Untersuchung von Verzehrunterschieden innerhalb der LSL-Hennen brachte für beide Behandlungsgruppen an den Versuchstagen 1-3 keinerlei Signifikanz, denn p war stets $>0,05$ (One-Way Repeated Measures ANOVA). Die Tabellen 4.56 a) und b) zeigen für beide Behandlungsgruppen sämtliche ermittelten Werte.

Tab. 4.56a): Mittlerer (\pm SE) Futterverzehr während der Versuchstage 1-3 bei Kontrolltieren der LSL-Linie

Versuchstag	Weizenverzehr [g/kg KG]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	14,28 \pm 2,160 (n=10)	0,174	nein
2	14,98 \pm 2,147 (n=10)		
3	16,90 \pm 1,748 (n=10)		

* One-Way Repeated Measures ANOVA

Ergebnisse

Tab. 4.56b): Mittlerer (\pm SE) Futterverzehr während der Versuchstage 1-3 bei Stresstieren der LSL-Linie

Versuchstag	Weizenverzehr [g/kg KG]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	12,71 \pm 1,830 (n=10)	0,145	nein
2	11,95 \pm 2,441 (n=10)		
3	15,69 \pm 2,283 (n=10)		

* One-Way Repeated Measures ANOVA

4.4.2.1.3 Vergleich zwischen LB- und LSL-Linie

Der Vergleich des mittleren Verzehrs aller vier Tiergruppen (LB-Kontrolle und LB-Stressor sowie LSL-Kontrolle und LSL-Stressor) an den drei Versuchstagen ergab keine signifikanten Unterschiede (s. Tab. 4.57). In Abbildung 4.47 sind die Verzehrsergebnisse der vier Tiergruppen an den drei Versuchstagen graphisch wiedergegeben.

Tab. 4.57: Vergleich des mittleren (\pm SE) Futterverzehrs während der Versuchstage 1-3 bei Hennen der LB- und der LSL-Linie

Versuchstag	Weizenverzehr [g/kg KG] LB-Kontrolle	Weizenverzehr [g/kg KG] LB-Stressor	Weizenverzehr [g/kg KG] LSL-Kontrolle	Weizenverzehr [g/kg KG] LSL-Stressor	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	11,37 \pm 1,446 (n=10)	10,88 \pm 1,120 (n=10)	14,28 \pm 2,160 (n=10)	12,71 \pm 1,830 (n=10)	0,493	nein
2	12,15 \pm 1,940 (n=10)	13,58 \pm 1,300 (n=10)	14,98 \pm 2,147 (n=10)	11,95 \pm 2,441 (n=10)	0,687	nein
3	11,92 \pm 1,573 (n=10)	13,91 \pm 1,503 (n=10)	16,90 \pm 1,748 (n=10)	15,69 \pm 2,283 (n=10)	0,244	nein

* One-Way ANOVA

Ergebnisse

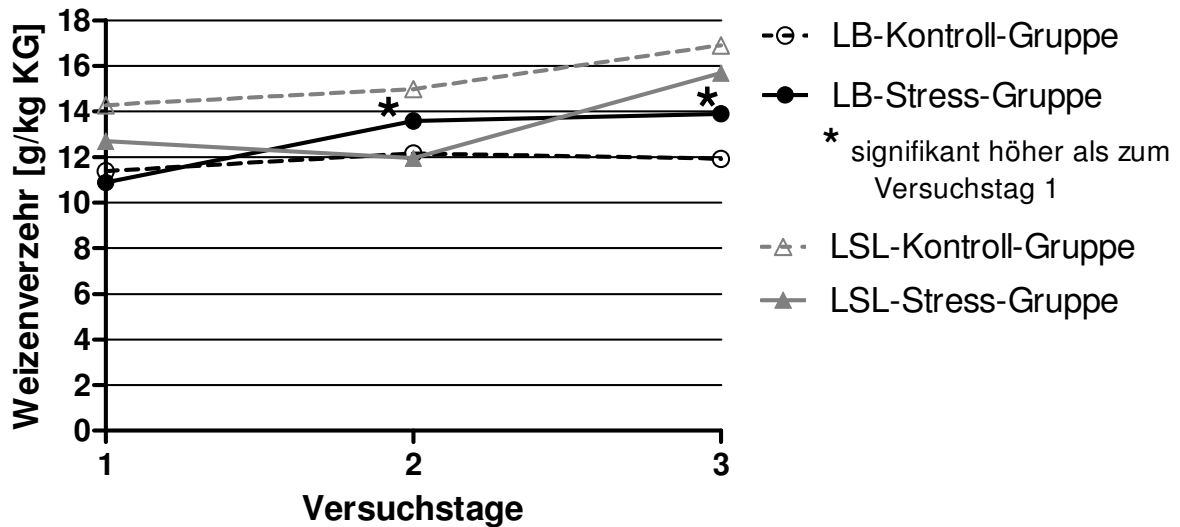


Abb. 4.47: Vergleich des mittleren Futterverzehrs während der Versuchstage 1-3 bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und der LSL-Linie

Obwohl keine signifikanten Verzehrunterschiede zwischen den Linien zu beobachten waren, fällt auf, dass erneut die LSL-Hennen (zumindest an Tag 1 und 3) ein höheres Verzehrsniveau aufwiesen. Zudem lässt die Graphik erkennen, dass sich alle Hühner von Versuchstag 1 zum Versuchstag 3 in der Weizenaufnahme in unterschiedlicher Ausprägung steigerten. Die prozentuale Verzehrsumahme (von Tag 1 auf Tag 3) beträgt bei LB-Kontrolle, LB-Stressor, LSL-Kontrolle bzw. LSL-Stressor +5 %, +28 %, +18 % bzw. +23 %. Dies zeigt, dass in beiden Hybridlinien jeweils die Stressgruppe an Tag 3 die ausgeprägteste Verzehrsumahme erfährt.

4.4.2.2 Behandlungs- und hybridlinienspezifische Fresszeiten im Y-Labyrinth an den Versuchstagen 1-3

Die nächsten Ergebnisse beziehen sich wieder darauf, wie lange die Hennen an allen drei Versuchstagen im Y-Labyrinth Zeit zum Fressen hatten. Verglichen wurden zunächst die behandlungsspezifischen Fresszeiten innerhalb jeder Legelinie. Anschließend folgte die Gegenüberstellung aller Fresszeiten bei beiden Hybridlinien.

Ergebnisse

4.4.2.2.1 LB-Hybridlinie

Zunächst wurde die LB-Kontroll-Gruppe auf Verzehrsunterschiede während der Versuchstage 1-3 überprüft. Die One-Way Repeated Measures ANOVA zeigte jedoch keine Signifikanz auf. Der Wert für p betrug 0,763 (s. Tab. 4.58a)).

Anders gestaltete sich das Ergebnis der One-Way Repeated Measures ANOVA zum Verzehr bei der LB-Stress-Gruppe. Hier wurde ein p von 0,014 berechnet. Die signifikanten Unterschiede wurden dann in einem weiteren Schritt mit der Holm-Sidak Methode tagesspezifisch lokalisiert. Die beiden folgenden Tabellen (s. Tab. 4.58a) und 4.58b)) zeigen die Ergebnisse im Detail. Dabei ist zu sehen, dass die LB-Stress-Gruppe an den Versuchstagen 2 und 3, verglichen mit Versuchstag 1 signifikant längere mittlere Fresszeiten erzielte. Am dritten Tag betrug die Steigung gegenüber dem ersten Tag 38 %. Abbildung 4.48 vermittelt ein graphisches Bild dieser Fresszeitenverlängerung. Aber auch für die LB-Kontroll-Gruppe gilt, dass sie sich im Laufe der 3 Versuchstage hinsichtlich der Fresszeiten steigerte (+11 %). Dies war jedoch ohne Signifikanz. (s. Tab. 4.58a)).

Tab. 4.58a) Mittlere (\pm SE) Fresszeit während der Versuchstage 1-3 bei Kontrolltieren der LB-Linie

Versuchstag	Fresszeit [min]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	1,04 \pm 0,122 (n=10)	0,763	nein
2	1,10 \pm 0,107 (n=10)		
3	1,16 \pm 0,109 (n=10)		

* One-Way Repeated Measures ANOVA

Ergebnisse

Tab. 4.58b) Mittlere (\pm SE) Fresszeit während der Versuchstage 1-3 bei Stresstieren der LB-Linie

Versuchstag	Fresszeit [min]	Holm-Sidak Methode	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	0,90 \pm 0,096 (n=10)	T: 1 vs. 2	0,018	ja
2	1,18 \pm 0,101 (n=10)	T: 1 vs. 3	0,007	ja
3	1,24 \pm 0,105 (n=10)	T: 2 vs. 3	0,648	nein

* One-Way Repeated Measures ANOVA

4.4.2.2.2 LSL-Hybridlinie

Bei der Anwendung einer Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks für die Fresszeiten der LSL-Kontroll-Gruppe an den drei Versuchstagen wurde für p ein Wert von 0,006 ermittelt. Dieser signifikante Unterschied wurde durch einen weiterführenden Dunns Test tagespezifisch lokalisiert. Die Tabelle 4.59a) zeigt diese Ergebnisse im Detail. Die Signifikanz innerhalb der Fresszeiten der Kontrollgruppe betrifft die Steigerung der Fresszeit von Tag 1 zu Tag 2 (+35 %) (s. Abb. 4.48).

Ähnlich zur LSL-Kontroll-Gruppe zeigte auch die LSL-Stress-Gruppe zahlenmäßig einen Anstieg der Fresszeit (von Tag 1 zu Tag 3: +46 %). Dieser ist jedoch nicht signifikant. Der hierfür berechnete p-Wert liegt bei 0,082 (One-Way Repeated Measures ANOVA) (s. Tab.4.59b)).

Tab. 4.59a): Mittlere (\pm SE) Fresszeit während der Versuchstage 1-3 bei Kontrolltieren der LSL-Linie

Versuchstag	Fresszeit [min]	Dunns Test	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	0,97 \pm 0,132 (n=10)	T: 1 vs. 2	>0,05	nein
2	1,08 \pm 0,135 (n=10)	T: 1 vs. 3	<0,05	ja
3	1,31 \pm 0,109 (n=10)	T: 2 vs. 3	>0,05	nein

* Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks

Ergebnisse

Tab. 4.59b): Mittlere (\pm SE) Fresszeit während der Versuchstage 1-3 bei Stresstieren der LSL-Linie

Versuchstag	Fresszeit [min]	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	0,79 \pm 0,119 (n=10)	0,082	nein
2	0,81 \pm 0,153 (n=10)		
3	1,15 \pm 0,167 (n=10)		

* One-Way Repeated Measures ANOVA

4.4.2.2.3 Vergleich zwischen LB- und LSL-Linie

Um die Fresszeiten der beiden gestressten und nicht gestressten Hybridlinien direkt miteinander vergleichen zu können, wurden für alle vier Versuchsgruppen One-Way ANOVAs angewandt. Daraus ergab sich, dass sich die Fresszeiten aller vier Gruppen nicht signifikant voneinander unterscheiden. Die für diesen Vergleich berechneten Werte sind Tabelle 4.60 zu entnehmen. Graphisch vergleichend dargestellt, wird dieses Ergebnis in Abbildung 4.48. Hierbei kann man erkennen, dass auch wenn es keine Signifikanz dafür gab, die LSL-Stress-Gruppe mit den niedrigsten Fresszeiten an Tag 1 und 2 begann, zum Tag 3 aber relativ betrachtet, die größte Steigung aufwies (+46 %). Die LSL-Stress-Gruppe erreichte dadurch annähernd die Fresszeiten der LB-Linie.

Ergebnisse

Tab. 4.60: Vergleich der mittleren (\pm SE) Fresszeiten während der Versuchstage 1-3 bei Hennen der LB- und der LSL-Linie

Versuchstag	Fresszeit [min] LB-Kontrolle	Fresszeit [min] LB-Stressor	Fresszeit [min] LSL-Kontrolle	Fresszeit [min] LSL-Stressor	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	1,04 \pm 0,122 (n=10)	0,90 \pm 0,096 (n=10)	0,97 \pm 0,132 (n=10)	0,79 \pm 0,119 (n=10)	0,408	nein
2	1,10 \pm 0,107 (n=10)	1,18 \pm 0,101 (n=10)	1,08 \pm 0,135 (n=10)	0,81 \pm 0,153 (n=10)	0,191	nein
3	1,16 \pm 0,109 (n=10)	1,24 \pm 0,105 (n=10)	1,31 \pm 0,109 (n=10)	1,15 \pm 0,167 (n=10)	0,766	nein

* One-Way ANOVA

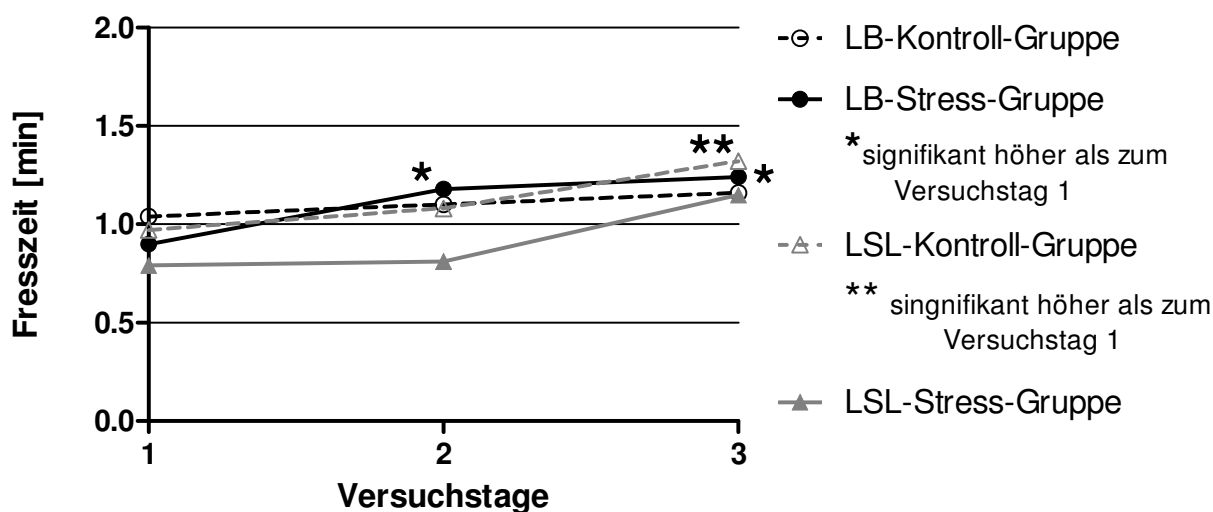


Abb. 4.48: Vergleich der mittleren Fresszeiten während der Versuchstage 1-3 bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und der LSL-Linie

Da zum wiederholten Male auffiel, dass die vier Tiergruppen bei den Parametern Weizenaufnahme (in g pro kg KG) und Fresszeit (in min) stark variieren, wurden die aufgenommenen Weizenmengen (in g pro min) berechnet und in Abbildung 4.49 dargestellt.

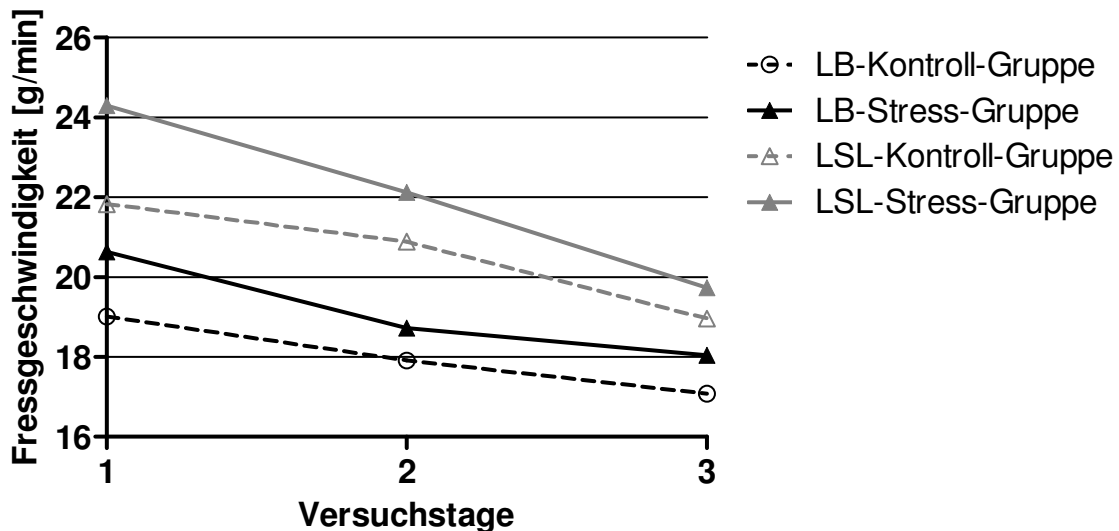


Abb. 4.49: Vergleich der mittleren Fressgeschwindigkeit während der Versuchstage 1-3 bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und der LSL-Linie

Deutlich wird dabei, dass alle Tiere der LSL-Hybridlinie in gleicher Zeit mehr Weizen aufnahmen, als die Tiere der LB-Hybridlinie. Besonders große Weizenmengen (in g pro min) verzehrten dabei die Tiere der LSL-Stress-Gruppe. Aber auch die gestressten Tiere der LB-Linie verzehrten pro min eine größere Futtermenge als die Kontrolltiere. Eindeutig ist auch, dass bei allen vier Versuchsgruppen im Verlauf der drei Versuchstage die verzehrte Futtermenge pro Zeiteinheit deutlich abnahm.

4.4.3 Befunde zur kognitiven Leistung

Während der ersten Woche der Verhaltensuntersuchungen (Trainingstage) wurden die Hennen einerseits auf den win-shift-Versuch vorbereitet, andererseits wurden die kognitiven Leistungen der Hennen anhand folgender Parameter ermittelt: Die Anzahl der korrekt absolvierten Läufe, die Beurteilung der Aufmerksamkeit und die Gedächtnisleistung. Während der zweiten Woche (Versuchstage) sollten Ergebnisse der gemessenen Parameter Aufschluss darüber geben, wie die Hennen mit der Anforderung der win-shift-Strategie umgehen konnten. Die Auswertung bezog sich dabei auf verschiedene Parameter: Die Korrekturversuche, die Anzahl der

unmittelbar richtigen Läufe, die Anzahl richtiger Läufe mit Korrektur und die Anzahl der unmittelbar hintereinander erfolgten richtigen Läufe.

4.4.3.1 Anzahl von Korrekturen für erfolgreiche Läufe im Labyrinth

Um zu erkennen, ob die Tiere die win-shift-Strategie verstanden hatten, war es hilfreich, die Anzahl der Korrekturversuche bei den Hennen zu erfassen. Darunter versteht man die Situation, dass eine Henne noch im Labyrinth bemerkt, sich für die falsche, also nicht belohnende Seite entschieden zu haben, und sie in der ihr noch verbleibenden Zeit die Seite wechselt, um zum belohnenden Napf zu gelangen. Grundsätzlich war ein derartiger Entscheidungswechsel für alle Tiere stets möglich. Am ersten Versuchstag war eine erfolgreiche Umorientierung jedoch ausgeschlossen, da hier zwei Hilfestellungen gegeben wurden. Zusätzlich zur roten Markierung des Futternapfes wurde veranlasst, dass der Weg zurück aus dem falschen Arm für den jeweiligen Lauf blockiert wurde. Die Henne konnte den Arm nicht wechseln und musste warten, bis die Zeit abgelaufen war. Dann konnte sie von neuem aus der Startbox heraus die korrekte Seite wählen. Abzüglich des ersten Versuchstages mit zehn Läufen, hatten die Hühner an Tag 2 und 3 also insgesamt 20 mal die Gelegenheit, die falsch gewählte Seite im Labyrinth spontan zu korrigieren. Tabelle 4.61 gibt die mittlere Häufigkeit der Korrekturen samt prozentualer Verteilung (Korrektur in % von insgesamt 20 Läufen) für die vier Versuchsgruppen an. Eine dazu durchgeführte One-Way ANOVA entdeckt keine Signifikanzen zwischen den Anzahlen der Korrekturen bei den vier Gruppen.

Ergebnisse

Tab. 4.61: Mittlere (\pm SE) Anzahl der Korrekturen für erfolgreiche Läufe im Labyrinth während der Versuchstage 2 und 3 bei Hennen der LB- und der LSL-Linie

	LB-Kontrolle	LB-Stressor	LSL-Kontrolle	LSL-Stressor	p*	Signifikanz des Unterschiedes
Anzahl der Korrekturen	5,90 \pm 1,303 (n=10)	5,30 \pm 1,106 (n=10)	4,10 \pm 1,069 (n=10)	3,50 \pm 1,057 (n=10)	0,438	nein
Korrektur [%]	29,5	26,5	20,5	17,5		

* One-Way ANOVA

Das Säulendiagramm in Abbildung 4.50 zeigt trotz fehlender Signifikanzen doch deutliche Unterschiede in der Säulenhöhe zwischen den vier Gruppen. Auch die zusätzlichen Prozentangaben (s. Tab. 4.61) deuten zumindest an, dass die LSL-Hennen weniger Korrekturversuche unternahmen.

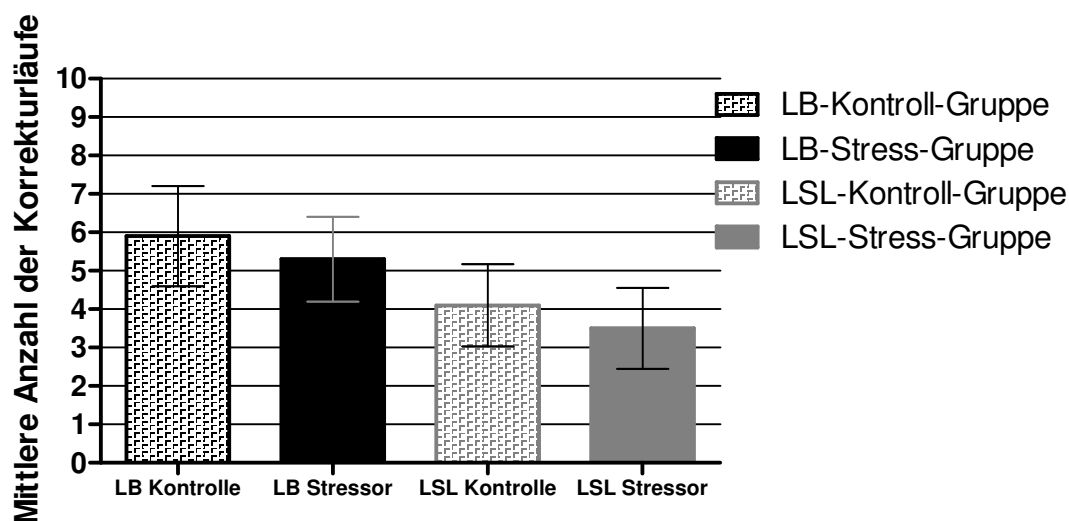


Abb. 4.50: Mittlere Anzahl der Korrekturen für erfolgreiche Läufe im Labyrinth während der Versuchstage 2 und 3 bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und der LSL-Linie (mit Angabe der Standardfehler)

Zwar war das Korrigieren der initial eingeschlagenen Wege eine Methode, um doch noch an die Belohnung (Weizen) zu kommen, aber es gab trotzdem Hennen, die sich dieser Möglichkeit nicht oder nur extrem selten bedienten. Der Anteil der Tiere, die

sich während aller Trials an allen Trainings- und Versuchstagen gar nicht bis maximal einmal korrigierten, war in der LSL-Stress-Gruppe mit (50 %) am höchsten. Bei den anderen drei Tiergruppen lag der Anteil jeweils bei 30 % der Tiere.

4.4.3.2 Anzahl der unmittelbar richtigen Läufe im Labyrinth an allen Versuchstagen

Wie schon im Training der ersten Woche konnten sich die Tiere an jedem Versuchstag insgesamt maximal 10 mal für die richtige Seite im Labyrinth entscheiden. Als kleine Besonderheit muss man aber hier vermerken, dass sie an allen drei Tagen im ersten Lauf eine 100 % Gewinnchance hatten, da hier zum Einstieg in Konsequenz aus der win-shift-Strategie immer beide Seiten belohnt wurden.

4.4.3.2.1 LB-Hybridlinie

Bei einem Vergleich der Anzahl der Läufe bei beiden Behandlungen (Kontrolle vs. Stressor) von LB-Hennen zeigten sich keine signifikanten Unterschiede. Die LB-Kontroll-Gruppe ließ sich dabei mit einer Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks überprüfen, die LB-Stress-Gruppe mit einer One-Way Repeated Measures ANOVA. Die Tabellen 4.62a) und b) beinhalten die genauen Ergebnisse für die beiden Gruppen.

Ergebnisse

Tab. 4.62a): Mittlere (\pm SE) Anzahl unmittelbar richtiger Läufe im Labyrinth während der Versuchstage 1-3 bei Kontrolltieren der LB-Linie

Versuchstag	Anzahl richtiger Läufe	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	7,00 \pm 0,699 (n=10)	0,255	nein
2	5,20 \pm 0,573 (n=10)		
3	5,60 \pm 0,521 (n=10)		

* Friedman Repeated Measures ANOVA on Ranks

Tab. 4.62b): Mittlere (\pm SE) Anzahl unmittelbar richtiger Läufe im Labyrinth während der Versuchstage 1-3 bei Stresstieren der LB-Linie

Versuchstag	Anzahl richtiger Läufe	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	6,50 \pm 0,671 (n=10)	0,562	nein
2	5,80 \pm 0,533 (n=10)		
3	5,80 \pm 0,442 (n=10)		

* One-Way Repeated Measures ANOVA

4.4.3.2.2 LSL-Hybridlinie

Bei beiden LSL-Gruppen (Kontrolle und Stressor) wurden die Zahlen der unmittelbar richtigen Läufe im Labyrinth mit einer One-Way Repeated Measures ANOVA analysiert. Es kam dabei zu keinen Signifikanzen. Die Ergebnisse, p und Mittelwerte, sind aus den Tabellen 4.63a) und b) zu entnehmen.

Ergebnisse

Tab. 4.63a): Mittlere (\pm SE) Anzahl unmittelbar richtiger Läufe im Labyrinth während der Versuchstage 1-3 bei Kontrolltieren der LSL-Linie

Versuchstag	Anzahl richtiger Läufe	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	6,80 \pm 0,573 (n=10)	0,136	nein
2	5,50 \pm 0,654 (n=10)		
3	6,70 \pm 0,539 (n=10)		

* One-Way Repeated Measures ANOVA

Tab. 4.63b): Mittlere (\pm SE) Anzahl unmittelbar richtiger Läufe im Labyrinth während der Versuchstage 1-3 bei Stresstieren der LSL-Linie

Versuchstag	Anzahl richtiger Läufe	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	5,70 \pm 0,731 (n=10)	0,224	nein
2	4,10 \pm 0,640 (n=10)		
3	5,50 \pm 0,671 (n=10)		

* One-Way Repeated Measures ANOVA

4.4.3.2.3 Vergleich zwischen LB- und LSL-Linie

Im folgenden Abschnitt erfolgt ein Vergleich der Anzahl der unmittelbar richtigen Läufe im Labyrinth bei beiden Behandlungen (Kontrolle vs. Stressor) bei beiden Linien zu den Versuchstagen 1-3. Eventuelle Signifikanzen sollten bis auf Versuchstag 3, bei dem eine Kruskal-Wallis One Way ANOVA on Ranks zur Anwendung kam, mit einer One-Way ANOVA gefiltert werden. Die Tabelle 4.64 gibt sämtliche Werte hierzu an. Abbildung 4.51 bietet eine graphische Darstellung der Ergebnisse. Auffällig ist, dass die Zahl der richtigen Läufe bei allen Gruppen, mit Ausnahme der LSL-Stress-Gruppe recht nah zusammen liegen. Die gestresste LSL-Gruppe zeigte an allen Versuchstagen niedrigere Zahlenwerte. Ferner zeigt sich am ersten Versuchstag bei allen vier Gruppen die Tendenz von mehr direkt richtigen

Ergebnisse

Läufen, als am zweiten Versuchstag. Zu erklären wäre dies durch die Hilfestellungen an Tag 1.

Tab. 4.64: Vergleich der mittleren (\pm SE) Anzahl unmittelbar richtiger Läufe im Labyrinth während der Versuchstage 1-3 bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und der LSL-Linie

Versuchstag	Anzahl richtiger Läufe LB-Kontrolle	Anzahl richtiger Läufe LB-Stressor	Anzahl richtiger Läufe LSL-Kontrolle	Anzahl richtiger Läufe LSL-Stressor	p	Signifikanz des Unterschiedes
1	7,00 \pm 0,699 (n=10)	6,50 \pm 0,671 (n=10)	6,80 \pm 0,573 (n=10)	5,70 \pm 0,731 (n=10)	0,544*	nein
2	5,20 \pm 0,573 (n=10)	5,80 \pm 0,533 (n=10)	5,50 \pm 0,654 (n=10)	4,10 \pm 0,640 (n=10)	0,227*	nein
3	5,60 \pm 0,521 (n=10)	5,80 \pm 0,442 (n=10)	6,70 \pm 0,539 (n=10)	5,50 \pm 0,671 (n=10)	0,446**	nein

* One-Way Repeated Measures ANOVA

** Kruskal-Wallis One Way ANOVA on Ranks

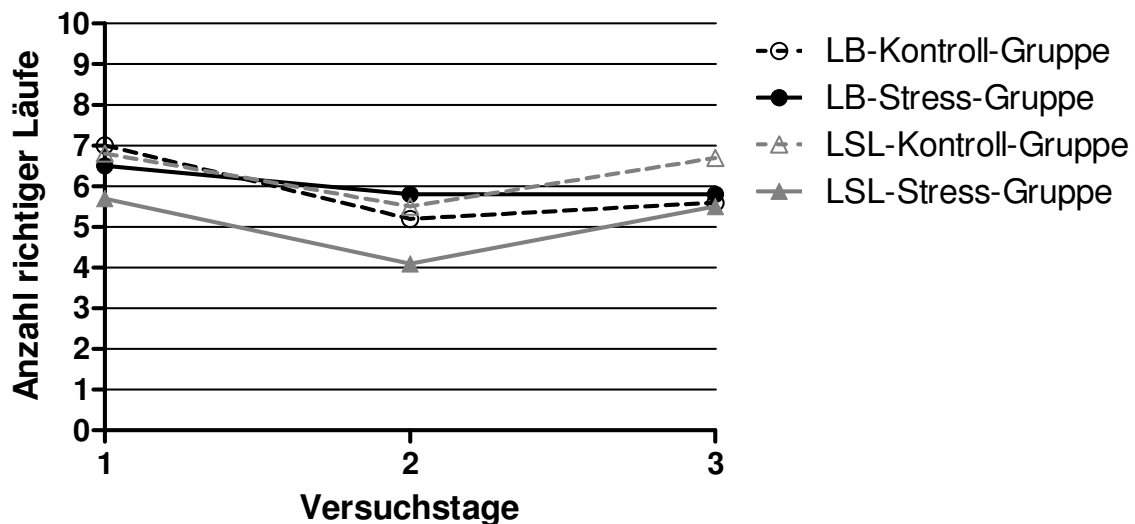


Abb. 4.51: Mittlerer Anzahl unmittelbar richtiger Läufe im Labyrinth während der Versuchstage 1-3 bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und LSL-Hybridlinie

Ergebnisse

Berücksichtigt man die Zahl der erfolgreichen Läufe (unter Einbindung der Korrekturen) anhand der Zahl der erhaltenen Belohnungen an allen Versuchstagen, (wobei der erste Versuchstag nicht korrigiert werden konnte und so die richtigen Läufe nur direkt gezählt werden konnten), so ergeben sich die in Tabelle 4.65 wiedergegebenen Werte. Abbildung 4.52 demonstriert den Verlauf dieser vier Mittelwerte während der drei Versuchstage.

Tab. 4.65: Vergleich der mittleren (\pm SE) Anzahl richtiger Läufe (unter Einbindung der Korrekturen) im Labyrinth während der Versuchstage 1-3 bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und der LSL-Linie

Versuchstag	Anzahl richtiger Läufe mit Korrektur LB-Kontrolle	Anzahl richtiger Läufe mit Korrektur LB-Stressor	Anzahl richtiger Läufe mit Korrektur LSL-Kontrolle	Anzahl richtiger Läufe mit Korrektur LSL-Stressor	p	Signifikanz des Unterschiedes
1	7,00 \pm 0,699 (n=10)	6,50 \pm 0,671 (n=10)	6,80 \pm 0,573 (n=10)	5,70 \pm 0,731 (n=10)	0,544*	nein
2	8,10 \pm 0,706 (n=10)	8,20 \pm 0,680 (n=10)	7,90 \pm 0,823 (n=10)	5,70 \pm 0,920 (n=10)	0,136**	nein
3	8,60 \pm 0,636 (n=10)	8,70 \pm 0,633 (n=10)	8,40 \pm 0,653 (n=10)	7,40 \pm 0,980 (n=10)	0,880**	nein

* One-Way Repeated Measures ANOVA

** Kruskal-Wallis One Way ANOVA on Ranks

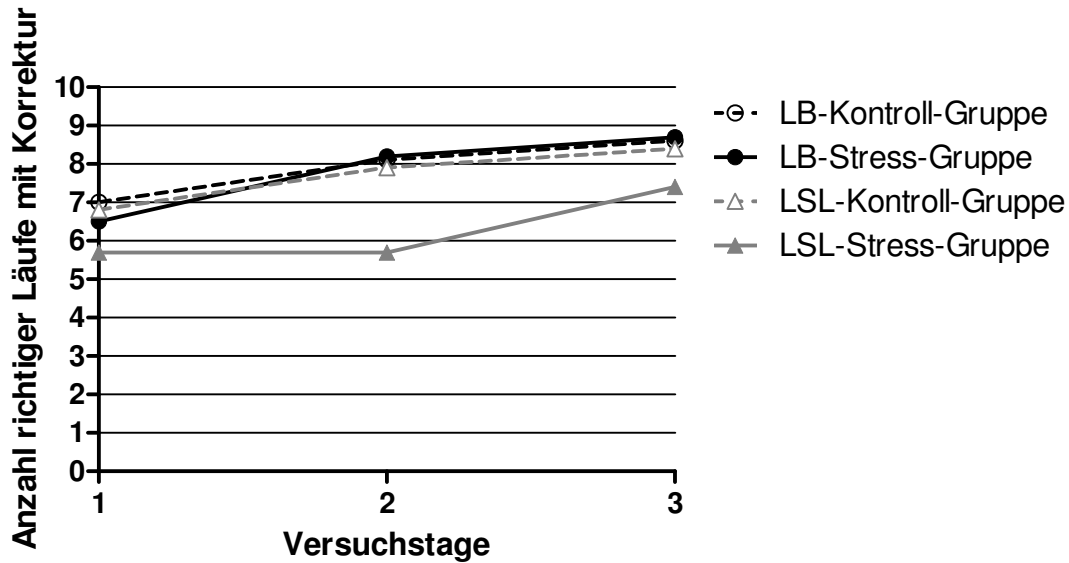


Abb. 4.52: Mittlerer Anzahl richtiger Läufe (unter Einbindung der Korrekturen) im Labyrinth während der Versuchstage 1-3 bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und LSL-Hybridlinie

4.4.3.2.4 Anzahl der unmittelbar hintereinander erfolgten richtigen Läufe während der Versuchstage 1-3

Um letztendlich zu sehen, ob die Tiere das Prinzip win-shift verstanden haben, macht es Sinn an jedem Versuchstag die Anzahl der Läufe zu berücksichtigen, die direkt hintereinander korrekt absolviert wurden.

Innerhalb der einzelnen Gruppen waren dabei keinerlei statistische Auffälligkeiten nachzuweisen (One-Way Repeated Measures ANOVAs und Friedman Repeated Measures ANOVAs on Ranks, p stets $>0,05$). Zusätzlich lieferte die Gegenüberstellung der vier Gruppen (LB und LSL, Kontrolle und Stressor) an keinem Tag einen signifikanten Unterschied (Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks, p stets $>0,05$) (s. Tab. 4.66).

Ergebnisse

Tab. 4.66: Vergleich der mittleren (\pm SE) Anzahl der unmittelbar hintereinander erfolgreich absolvierten Läufe im Labyrinth während der Versuchstage 1-3 bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und der LSL-Linie

Versuchs- tag	[Anzahl direkt hintereinander richtiger Läufe] LB-Kontrolle	[Anzahl direkt hintereinander richtiger Läufe] LB-Stressor	[Anzahl direkt hintereinander richtiger Läufe] LSL-Kontrolle	[Anzahl direkt hintereinander richtiger Läufe] LSL-Stressor	p*	Signifikanz des Unterschiedes
1	4,80 \pm 0,950 (n=10)	4,10 \pm 0,800 (n=10)	3,80 \pm 0,800 (n=10)	3,40 \pm 0,640 (n=10)	0,735	nein
2	2,90 \pm 0,600 (n=10)	2,70 \pm 0,400 (n=10)	2,60 \pm 0,400 (n=10)	1,90 \pm 0,310 (n=10)	0,450	nein
3	2,70 \pm 0,560 (n=10)	2,40 \pm 0,400 (n=10)	4,10 \pm 0,400 (n=10)	2,60 \pm 0,730 (n=10)	0,247	nein

* Kruskal-Wallis One-Way ANOVA on Ranks

Abbildung 4.53 zeigt die Ergebnisse von Tabelle 4.66 als Säulendiagramm.

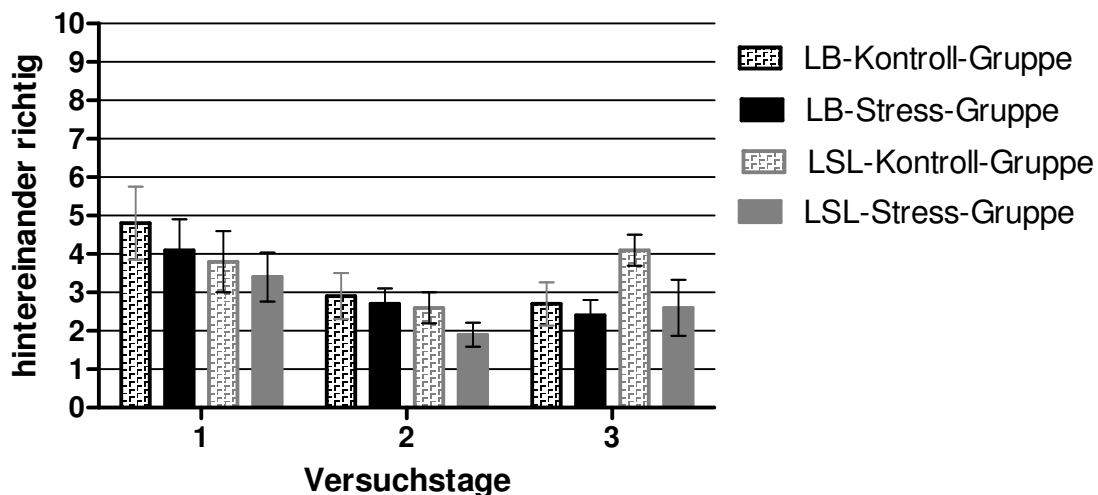


Abb. 4.53: Mittlerer Anzahl der unmittelbar hintereinander erfolgreich absolvierten Läufe im Labyrinth während der Versuchstage 1-3 bei „gestressten“ und nicht „gestressten“ (Kontrolle) Hennen der LB- und LSL-Hybridlinie (mit Angabe der Standardfehler)

Ergebnisse

Insbesondere letzteres zeigt recht prägnant, dass der Lauf (Erfolg) im Labyrinth am Versuchstag 1 bei drei der vier Gruppen am größten war. Allein die LSL-Kontroll-Gruppe konnte am dritten Versuchstag die beste Leistung hervorbringen. Für die mehrheitlich besseren Erfolgsergebnisse am ersten Versuchstag dürfte der rote Signalnapf ursächlich sein. Die Hennen scheinen vorrangig über optische Reize zu lernen. Eine gewisse logische Reihenfolge (und Konsequenz), basierend auf entsprechenden Strategien, scheint den Tieren eher schwer zugänglich. Dennoch lieferten die Hennen, die das Problem der Orientierung im Labyrinth am besten lösten, Läufe mit durchschnittlich 5-6 richtigen Entscheidungen direkt hintereinander. Die Tiere mit der schlechtesten Leistung kamen lediglich auf durchschnittlich 1-3 korrekte Läufe direkt hintereinander.

5 Diskussion

5.1 Auswirkungen der Immobilisierung auf die Konzentration von Kortikosteron im Blutplasma

In vorliegender Studie sollten die Effekte einer körperlichen Stresseinwirkung (hier Kreuzen der Flügel) mittels ausgewählter Blutparameter und anhand des Verhaltens der Hennen dargestellt werden. Das Kreuzen der Flügel gilt bei Hühnern als unkomplizierte und deshalb im Praxisalltag als „übliche“ Fixationsmaßnahme, die auch im Studium der Veterinärmedizin im Fach Propädeutik gelehrt wird (König & Liebich 2001). Gleichzeitig war zu erwarten, dass dieser Stressor wegen seiner raschen und wenig aufwendigen Induktion gut reproduzierbar und in seiner Auswirkung (auf die untersuchten Parameter) relativ einheitliche Stressantworten induziert. Damit stünde auch für weiterführende Stressuntersuchungen am Huhn ein interessantes, leicht induzierbares und gut standardisierbares, also möglicherweise auch sehr „robustes“ Stress-Modell zur Verfügung.

Bisher gab es noch keine Untersuchung, die überprüfte, ob diese Art der Fixation bei Hennen überhaupt nachweisbar Stress induziert. Verschiedene Studien, die aufzeigten, dass die Immobilisierung von Tieren von Hand als Stressor einzuschätzen ist (Beuving & Vonder 1978; Cockrem 2007), ließen jedoch vermuten, dass das Flügelkreuzen ebenfalls Stress verursachen würde.

Die Fixationstechnik selbst gilt als problemlos durchführbar, indem am stehenden Tier die Flügel über dem Rücken gekreuzt werden und es anschließend behutsam auf die Seite gelegt wird. Allerdings kam es auch in der vorliegenden Untersuchung regelmäßig dazu, dass sich fixierte Hennen aus eigener Kraft aus der Immobilisierung lösten. Dies stellte jedoch für den Versuchsablauf kein größeres Problem dar, da das Tier erneut rasch fixiert werden konnte. Sollte jedoch auch die Anzahl von Befreiungsversuchen (+Neufixierung) pro Henne zusätzlich Stress-relevant werden, so wäre der Modellcharakter dieses Stressors ernsthaft gefährdet. Letztendlich führten die Befreiungsversuche und auch die Auswertung der Stressreaktion zu repräsentativen Ergebnissen.

Diskussion

Die Ermittlung der Kortikosteronkonzentration bei gestressten und nicht gestressten Hühnern beider Hybridlinien über einen Beobachtungszeitraum erbrachte hinsichtlich der Wirksamkeit des angewandten Stressors äußerst aufschlussreiche Ergebnisse. So zeigte sich bei der Ermittlung der basalen Kortikosteronkonzentration zum ZP 0 (=unmittelbar vor dem Stress), dass sich die LB- und LSL-Hennen hierin nicht signifikant unterscheiden. Der durchschnittliche Gehalt an Kortikosteron im Blutplasma beträgt bei den LB-Hennen $13,68 \pm 1,593$ nmol/l und bei den LSL-Hennen $9,13 \pm 0,674$ nmol/l. Im Vergleich mit Literaturangaben ist zu erkennen, dass die hier gewonnen Werte etwas über den bereits bekannten Blutplasmawerten liegen, z.B. bei Carsia (2000) mit Angaben von 4,3-7,2 nmol/l (adulte Hennen) oder bei Fraisse (2006) mit Angaben von <7,2 nmol/l (braune und weiße Hennen). Die Ursachen für diese geringen Unterschiede können vielfältig sein, z.B. die Art der Blutentnahme, unterschiedliche Messmethoden oder die Stichprobenanzahl. Die sich in unserer Untersuchung abzeichnende Tendenz, dass weiße Hühner eine etwas geringere Kortikosteron-Basalkonzentration aufweisen, zeigt sich auch bei den Untersuchungen von Fraisse (2006). Die Unterschiede in der basalen Kortikosteronkonzentration bei beiden Linien konnte auch dort als nicht signifikant bewertet werden. Andererseits bedeutet dies, dass bei Vergrößerung der Stichprobenzahl der Unterschied auch signifikant werden könnte.

Interessant gestaltet sich die Auswertung der Kortikosteronkonzentration zum ZP 1 (=30 min). Die Blutentnahme erfolgte hier entweder unmittelbar nach Beendigung der körperlichen Fixation (Stresstiere), oder nach einem 30-minütigem Aufenthalt in einer abgedunkelten Kartonbox (Kontrolltiere). Es entsprach der Erwartung, dass die Kontrolltiere der LSL-Linie zum ZP 1 mit $7,40 \pm 1,199$ nmol/l einen ähnlichen Wert wie zu ZP 0 ($9,13 \pm 0,674$ nmol/l) aufwiesen. Überraschenderweise fiel in der Kontrollgruppe der LB-Linie die mittlere Kortikosteronkonzentration zwischen ZP 0 ($13,68 \pm 1,593$ nmol/l) und ZP 1 ($7,44 \pm 0,877$ nmol/l) signifikant ab ($p=0,007$). Offensichtlich führte bei den LB-Hennen der 30-minütige Aufenthalt in der Kartonbox zu einer deutlichen Beruhigung. Die Fixationsbehandlung führte bei den Hennen beider Linien zu einem sehr ähnlichen signifikanten Konzentrationsanstieg (LB: $25,64 \pm 4,197$ nmol/l und LSL: $27,52 \pm 3,898$ nmol/l). Das heißt, hormonell betrachtet zeigt das Flügelkreuzen eine unmittelbar darstellbare Stresswirkung. Die Kortikosteronkonzentration steigt während der Fixation um 90 % (LB-Hennen) bzw.

um 195 % (LSL-Hennen). Auch Beuving & Vonder (1978) wiesen bei weißen Legehennen in Folge einer manuellen Immobilisierung (Fixation durch Hand) einen signifikanten Anstieg der Kortikosteronkonzentration nach, und bezeichneten dies als eindeutige Stressreaktion.

Betrachtet man die Hormonkonzentration zum ZP 2 (15 min nach Stressende), so lassen sich linienspezifisch unterschiedliche Veränderungen in der Poststress-Kortikosteronkonzentration feststellen, die erstmals auch vermuten lassen, dass es bei der Verarbeitung eines Stressgeschehens zwischen den beiden Hybridlinien Unterschiede geben könnte. Während die LB-Stress-Gruppe mit einer mittleren Kortikosteronkonzentration von $11,32 \pm 1,017$ nmol/l sich allmählich an den mittleren Kortikosteronwert der LB-Kontroll-Gruppe ($9,25 \pm 1,273$ nmol/l) angleicht, bleibt der zwar abgesunkene mittlere Wert der LSL-Stress-Gruppe noch signifikant erhöht. Dieser liegt bei $17,08 \pm 1,997$ nmol/l, jener der LSL-Kontroll-Gruppe bei $10,84 \pm 1,362$ nmol/l. Offensichtlich hat sich der mittlere Kortikosterongehalt im Blutplasma der LB-Linie bereits 15 min nach Beendigung des Stressgeschehens wieder dem Mittelwert der nicht gestressten Kontrollgruppe angeglichen. Die Kortikosteronkonzentration der LSL-Stress-Gruppe fällt zwar innerhalb dieser stressfreien 15 min auch ab (-38 %), erreicht aber dabei nicht die basale Ausgangskonzentration. Ein Abgleich dieses Ergebnisses mit denen der Studie von Fraise (2006) zeigt eine sehr weitgehende Übereinstimmung. Fraise verglich die Auswirkungen von Stress bei einer braunen und einer weißen Legelinie. Dabei zeigte sich, dass die Kortikosteronkonzentration 15 min nach Beendigung des Stresses auch bei den braunen Hennen schneller abfiel (auf ca. 11,55 nmol/l), als bei den weißen Hennen (auf ca. 23,10 nmol/l). Zu berücksichtigen bleibt jedoch, dass bei diesen Versuchen die Konzentration an Kortikosteron direkt nach Stressinduktion bei den beiden Linien unterschiedlich stark ausgeprägt war. Die LSL-Linie erfuhr einen Anstieg auf ca. 34,64 nmol/l (+381 %), während die LB-Linie einen mittleren Wert von ca. 23,10 nmol/l (+221 %) aufwies. Dies war in unserer Studie nicht der Fall. Die Stressgruppen beider Linien verhielten sich diesbezüglich einheitlich, so dass der linienspezifische Unterschied in der Stressverarbeitung 15 min nach Stressende signifikant zu Tage treten konnte.

Diskussion

Bei der Auswertung von Kortikosteron 45 min nach Beendigung des Stressors (ZP 3), glichen die Konzentrationsergebnisse jenen zum ZP 2. So hatte die LB-Stress-Gruppe eine mittlere Kortikosteronkonzentration von $9,29 \pm 1,119$ nmol/l, die der LB-Kontroll-Gruppe lag bei $9,57 \pm 1,157$ nmol/l und auch die der LSL-Kontroll-Gruppe lag mit $11,55 \pm 1,863$ nmol/l ebenfalls in diesem Bereich. Die LSL-Stress-Gruppe hingegen zeigte nach wie vor einen erhöhten Kortikosteronspiegel, der im Mittel $15,68 \pm 1,248$ nmol/l betrug. Dieser Wert ist zwar niedriger als zu ZP 2, zeigt aber dennoch Signifikanz gegenüber den zeitgleichen Ergebnissen der anderen Gruppen. Unterstützung erfahren diese LSL-Ergebnisse aus der Literatur. So zeigte Fraisse (2006) bei seinen Untersuchungen, dass der Gehalt an Kortikosteron im Blut bei der LSL-Linie 45 min nach Stressende immer noch nahezu auf dem gleichen Level liegt, wie 15 min nach Stressende (ca. 23,10 nmol/l).

Später, zu den ZP 4 und 5 (75 min und 105 min nach Stressende) konnte schließlich beobachtet werden, dass auch in der LSL-Stress-Gruppe der basale Kortikosterongehalt im Blutplasma erreicht wurde.

Eine Gemeinsamkeit, die alle vier Gruppen betraf, liegt darin, dass die mittlere Konzentration an Kortikosteron zum ZP 5 wieder leicht anstieg. Ein Grund für diesen einheitlichen, aber nicht signifikanten Anstieg ist allerdings schwer zu erkennen, denn nach Anwendung des Stressors und der direkt folgenden Blutentnahme verliefen alle weiteren Blutentnahmen zu den ZP 2-5 für alle Gruppen identisch. Auch in der Zeit zwischen der Blutprobengewinnung gab es keine Behandlungsunterschiede, da alle Hennen die Wartezeiten in einer abgedunkelten Kartonbox verbrachten. Eine mögliche Ursache könnte jedoch darin liegen, dass für die Studie legereife Hennen herangezogen wurden. Nach derzeitigem Kenntnisstand ist davon auszugehen, dass ca. 1 Stunde vor der Eiablage ein vorübergehender Kortikosteronanstieg im Blut erfolgt (Beuving & Vonder 1981). Das heißt, in der stressfreien Zeit könnten Schwankungen in der Kortikosteronkonzentration aufgrund einer bevorstehenden Eiablage zustande gekommen sein. Nicht zuletzt auch aus diesem Grund wurde in dieser Studie darauf geachtet, dass zu Versuchsbeginn die Hennen bereits gelegt hatten. Trotzdem kam es aber auch vor, dass einige Hennen während des Aufenthaltes in der abgedunkelten Kartonbox ein Ei ablegten. Da die Versuchsaufzeichnungen zeigten, dass die Eiablage in der Kartonbox sich

gleichmäßig auf den gesamten Beobachtungszeitraum verteilte, ist eine spezifische Auswirkung nur auf ZP 5 eher auszuschließen.

Insgesamt gesehen vermittelt die Messung des Kortikosterongehaltes im Blutplasma auch bei vorliegender körperlicher Belastung der Hennen einen recht empfindlichen Einblick ins Stressgeschehen. Nichts desto trotz bleibt es ratsam, insbesondere für das Zustandekommen von sogenannten Basalwerten vor bzw. nach dem Stressereignis, auch das Auftreten von diurnalen Rhythmen, von individuellen Unterschieden, oder auch die Eiablage als physiologische Einflussfaktoren zu berücksichtigen. Darüber hinaus ist der Kortikosterongehalt offensichtlich auch geeignet, hybridlinienspezifische Unterschiede in der Regenerationsfähigkeit vom Stressgeschehen aufzuzeigen. Letzterer Aspekt könnte bei der Bewertung von mehreren aufeinander folgenden sogenannten Kurzzeitstress-Situationen eine besondere Bedeutung erlangen. Das heißt, für ganz unterschiedliche wissenschaftliche Fragestellungen könnten beide Hybridlinien mit der hier gegebenen körperlichen Belastung ein interessantes Stress-Modell auch zur Bearbeitung von Poststress-Situationen abgeben. Dennoch gibt es zwischen den beiden Linien geringfügige Unterschiede. Denn betrachtet man zum ZP 0 beim Vergleich der mittleren Kortikosteronkonzentration der beiden Hybridlinien den jeweiligen Variationskoeffizienten, so geht hervor, dass die LB-Hennen mit einem VK in Höhe von 58,6 % etwas mehr gruppenspezifische Variabilität aufweisen, als die LSL-Hennen mit einem VK in Höhe von 37,6 %.

5.2 Sind Befreiungsversuche aus der Immobilisierung Stress-relevant?

Während der 30 Minuten andauernden Fixation reichte die Zahl der Befreiungsversuche pro Henne von 0-7mal. Auffallend war, dass sich Hennen der LB-Linie bis zu 7 mal befreiten, Hennen der LSL-Linie zeigten maximal 4 Befreiungsversuche. Diese Zahlen erklären in einer genaueren Auswertung den Fakt, dass sich die LB-Hennen im Mittel 2,52 mal befreiten, die LSL-Hennen jedoch nur 1,82 mal. Statistisch signifikant war dieser Unterschied allerdings nicht. Dass dieses

Ergebnis aber dennoch auf Linienunterschiede hinweist, zeigt eine Studie, die sich ebenfalls mit dem Vergleich von verschiedenen Legehybridlinien beschäftigt hatte (Gallup, Ledbetter et al. 1976). Die Durchführung und Auswertung der Anwendung von tonischer Starre (=Ruhigstellung des gesamten Körpers, s. 2.4.2) ergab hier sogar signifikante Differenzen zwischen den Hybridlinien. So war zu erkennen, dass Tiere der White Leghorn Linie signifikant länger in der tonischen Starre verharrten (ca. 1416 Sekunden), als die der anderen Legehybriden (ca. 594 Sekunden). Auch Fraisse (2006) kam in seinen Untersuchungen zu dem Resultat, dass weiße Hühner sich einer tonischen Starre leichter fügten als braune Hühner. Bezieht man nun zu diesen beiden Studien von Gallup (1976) und Fraisse (2006) unsere Untersuchung mit ein, so würden die Ähnlichkeiten im Ergebnis für eine Linien-Spezifität bei der Akzeptanz von Zwangsmaßnahmen bedeuten. Sie wäre demnach im Zusammenhang mit einer körperlichen Zwangsmaßnahme bei LSL-Hennen größer, als bei LB-Hennen. Dass sowohl Gallup als auch Fraisse signifikante Resultate hervorbrachten, könnte entweder von einer größeren Stichprobenzahl abhängen, oder aber auch von der Art der Immobilisierung, die hier noch deutlichere Ergebnisse lieferte.

Um den Einfluss der Befreiungsversuche auf die Intensität des eigentlichen Stressgeschehens erfassen zu können, war es naheliegend, die beiden Variablen, Zahl der Befreiungsversuche und Kortikosteronkonzentration zum ZP 1 auf Korrelation zu überprüfen. Abermals entsprach das Ergebnis der LB-Hybridlinie nicht jenem der LSL-Linie. So konnte bei den LB-Hennen keine Korrelation ermittelt werden. Der Korrelationskoeffizient r betrug $-0,081$. Bei den LSL-Hennen hingegen betrug $r=0,726$ ($p=0,012$). Diese positive Korrelation bedeutet, dass zumindest bei der LSL-Linie die Stressintensität, gemessen anhand der Kortikosteronkonzentration, mit der Anzahl der Befreiungsversuche zunimmt. Andererseits scheinen die LB-Hennen durch die mehrfach wiederholten Fixationen (nach den Befreiungen) nicht vermehrt belastet zu werden.

5.3 Auswirkungen der Immobilisierung auf die Konzentration der Glukose im Blutplasma

Vergleicht man zunächst bei der LB-Linie die Glukosewerte der Kontroll- und Stresstiere, so zeigt sich nach Stressinduktion zu den ZP 1 und 2 ein signifikant höherer Glukosegehalt als bei den Kontrolltieren. So zeigte die Stressgruppe zum ZP 0 einen Ausgangswert von $11,81 \pm 0,271$ mmol/l, anschließend zum ZP 1 einen Anstieg auf $12,88 \pm 0,199$ mmol/l und kehrte anschließend in kleinen Schritten (bis zum ZP 5) wieder auf $11,95 \pm 0,240$ mmol/l zurück. Bei der LB-Kontroll-Gruppe lagen im zeitgleichen Beobachtungszeitraum die Glukosewerte im Bereich von $11,82 \pm 0,20$ mmol/l und $12,11 \pm 0,16$ mmol/l. Anhand dieser Ergebnisse kann man davon ausgehen, dass der hier gewählte Stressor über den erhöhten Kortikosterongehalt die Glukoseverfügbarkeit im Blut erhöhte.

Ein erhöhter Blutglukosespiegel gilt üblicherweise als typische Stressreaktion (z.B. (Rosales 1994)). Einen direkten Beleg hierfür beim Huhn lieferte Zhao (2009). Er experimentierte mit dem Einfluss von exogen zugeführtem Kortikosteron auf verschiedene Blutparameter, unter anderem auch auf Blutglukose. Versuchstiere waren hierbei Broiler, denen einmalig Kortikosteron in der Dosierung 4 mg/kg KG subkutan verabreicht wurde. 3 Stunden nach der Hormonsubstitution, stellte sich bei den Versuchstieren ein um 32 % signifikant höherer Gehalt an Blutglukose dar ($15,8 \pm 0,45$ mmol/l), als bei den Kontrolltieren ($12,0 \pm 0,21$ mmol/l). Das heißt, für die Wirkung auf den Glukosespiegel spielt es keine Rolle, ob Kortikosteron den Tieren exogen zugeführt wird, oder ob es bedingt durch einen Stressor zu einer vermehrten endogenen Hormonausschüttung kommt.

Überraschend anders, und damit auch nicht mit den Ergebnissen von Rosales (1994) und Zhao (2009) vergleichbar, verliefen die Ergebnisse bezüglich des Blutglukosespiegels bei der LSL-Linie. Hier konnte zu keinem Zeitpunkt im Beobachtungszeitraum bei der LSL-Stress-Gruppe ein signifikant höherer Glukosewert als bei den Kontrolltieren nachgewiesen werden. Jedoch wies die Stressgruppe zum ZP 1 nach Stressinduktion einen signifikant höheren Wert auf als zu Beginn des Beobachtungszeitraumes (ZP 0). Er stieg von $11,38 \pm 0,205$ mmol/l

auf $12,92 \pm 0,344$ mmol/l an. Da aber zeitgleich auch in der Kontrollgruppe die Blutglukose einen signifikanten Anstieg von $11,78 \pm 0,319$ mmol/l auf $12,09 \pm 0,370$ mmol/l erfuhr, ließ sich der Stresseffekt im Vergleich zur Kontrollgruppe nicht darstellen, denn auch in dieser Gruppe war fast zu jedem Zeitpunkt der Blutglukosegehalt signifikant höher als zum ZP 0. Das heißt, im Vergleich zur Kontrollgruppe lassen sich die Auswirkungen des Stressors auf die Blutglukose bei den LSL-Tieren nicht bestätigen. Möglicherweise haben die LSL-Kontrollhennen während der 30-minütigen „Ruhephase“ in der Box ihren Glukoseverbrauch erheblich eingeschränkt, mit einem leichten Anstieg des Blutglukosespiegels in der Folge. Dafür spricht, dass bei beiden Hybridlinien ein direkter Vergleich der Blutglukosewerte zum ZP 0 keinen Unterschied ergab. Die LB-Hennen wiesen einen mittleren Wert von $11,82 \pm 0,169$ mmol/l und die LSL-Tiere einen Wert von $11,59 \pm 0,196$ mmol/l auf.

5.4 Auswirkungen der Immobilisierung auf die Konzentration der Harnsäure im Blutplasma

Die Messung der Harnsäure im Blutplasma brachte Ergebnisse mit großen Konzentrationsschwankungen hervor. Dieser Eindruck zog sich, ohne einen festen Anhaltspunkt für die Ursachen zu finden, durch alle Zeitpunkte hindurch. So erbrachte keiner der angestrebten Konzentrationsvergleiche zwischen den Kontroll- und Stressgruppen innerhalb einer Linie, als auch zwischen den beiden Linien irgendwelche signifikanten Unterschiede hervor.

Dies bedeutet, dass der Stressor „Flügelkreuzen“, welcher anhand der Konzentrationsveränderungen von Kortikosteron und Glukose im Blutplasma sichtbar wird, sich offensichtlich nicht auf die Konzentration der Harnsäure auswirkt. Zu berücksichtigen ist jedoch, dass der induzierte Stress nur von kurzer Dauer war, denn der Kortikosteronspiegel erreichte spätestens nach 75 min wieder Basalniveau. Möglicherweise könnte ein Langzeitstress mit anhaltend erhöhter Kortikosteronkonzentration Veränderungen in der Harnsäurekonzentration induzieren. So zeigen die Untersuchungen von Liu (2012), dass eine exogene Zufuhr

von Kortikosteron bei Legehennen in der Dosierung von 2 mg/kg KG subkutan zweimal täglich über die Dauer von 7 Tagen über deren Protein-katabole Wirkung einen signifikanten Anstieg der Harnsäure (ca. 400 $\mu\text{mol/l}$) im Vergleich zur Kontrollgruppe (ca. 100 $\mu\text{mol/l}$) zur Folge hat.

Betrachtet man den Harnsäure-Konzentrationsverlauf der vier Tiergruppen in der vorliegenden Untersuchung, so weisen die beiden LB-Gruppen stets eine leicht höhere Harnsäurekonzentration auf als die LSL-Gruppen. Ob dieser Trend Proteinstoffwechsel-spezifisch ist und auf einen diesbezüglichen Unterschied bei den beiden Hybridlinien hindeutet, oder ob es Zufall ist, lässt sich anhand der vorliegenden Erkenntnisse nicht klären.

5.5 Auswirkungen der Immobilisierung auf die Konzentration von Freien Fettsäuren im Blutplasma

Auch die Interpretation der Auswirkung des Stressors auf den Gehalt der Freien Fettsäuren im Blutplasma gestaltet sich schwierig. Statistisch gesehen konnte bei den vier Tiergruppen kein signifikanter Unterschied ermittelt werden. Offensichtlich eignet sich der hier genutzte Stressor in der gegebenen kurzen Dauer und der geringen Belastungsintensität nicht, um z.B. lipolytisch sichtbar zu werden. So lassen ebenfalls die Experimente von Zhang (2009) und Liu (2012) vermuten, dass sich nur bei Induktion einer Langzeitbelastung mit anhaltend hohen Kortikosteronspiegeln im Blut, signifikante Veränderungen in der Konzentration der Freien Fettsäuren ergeben. Somit lässt sich auch vermuten, dass der Zusammenhang von Stress und der Konzentration der Freien Fettsäuren im Blut zumindest bei Kurzzeitbelastung schwierig herzustellen ist, und folglich auch nur ansatzweise Literaturquellen darauf verweisen.

5.6 Einfluss der Immobilisierung auf die Körpertemperatur

Bei der Auswertung der ermittelten Körperkerntemperatur konnte interessanterweise folgendes beobachtet werden. Sowohl die LB-, als auch die LSL-Stress-Gruppe zeigte ab ZP 1 signifikant niedrigere Werte als zum ZP 0. Dies ist überraschend, denn entsprechend der Untersuchung von Rosales (1994) an Geflügel würde man als Stressantwort eher eine Erhöhung der Körperkerntemperatur erwarten. Er beschreibt bei Stress, der beispielsweise durch klimatische oder physiologische Bedingungen hervorgerufen wird, einen Anstieg der Körpertemperatur. Bei der Gegenüberstellung der Temperaturwerte der Kontroll- und Stresstiere konnte aber bei beiden Linien statistisch gesehen keine Signifikanz ermittelt werden.

Auch der Vergleich der Temperaturwerte bei beiden Linien ergab keine signifikanten Hinweise auf Unterschiede. Diese Ergebnislage würde bedeuten, dass sich beide Legelinien weder in ihrer basalen Körpertemperatur unterscheiden, noch, dass bei ihnen ein Einfluss des Stressors auf die Körperkerntemperatur zu ermitteln war.

Offensichtlich ist aber auch, dass die Stresstiere zu allen Zeitpunkten signifikant niedrigere Werte zeigen als zum ZP 0. Dies könnte bei Betrachtung der Versuchsdurchführung daran liegen, dass die Tiere während der Dauer der körperlichen Fixation auf dem Fußboden lagen und es so über einen Wärmeverlust zu einem Abfall der Körpertemperatur kam. Die Hennen lagen zwar fixiert, aber sonst ungeschützt auf einer Isolationsmatte. Da darunter der Boden mit Fliesen versehen war, könnte dies zu einem nicht unerheblichen Temperaturgradienten geführt haben, der bei den immobilisierten Tiere zu einer Wärmeableitung führte. Die Kontrolltiere saßen für die Dauer der Stressphase etwas besser geschützt vor äußeren Temperatureinwirkungen in einem Karton, der sich eventuell zusätzlich durch die Körpertemperatur der Hennen erwärmen konnte. Zudem konnten sich die Tiere im Karton frei bewegen und auch so Wärmeenergie freisetzen.

Generell ist zu berücksichtigen, dass eine unbeeinflusste Messung der Körpertemperatur beim Vogel schwierig durchzuführen ist. So kann die Körpertemperatur bereits durch einfachstes Handling ansteigen (Cabanac & Aizawa 2000). Auch die bevorstehende Eiablage kann eine Rolle bei der Beeinflussung der

Körpertemperatur spielen (Kadono, Besch et al. 1981). Um derartige zusätzliche Effekte auf die Körpertemperatur zu minimieren, hätte eine Ermittlung der Grundtemperatur mithilfe einer implantierten Temperatursonde zu verschiedenen Tageszeiten stattfinden müssen. Für die vorliegende Untersuchung bleibt festzuhalten, dass sehr viel Wert darauf gelegt wurde, die Hennen an das versuchsdurchführende Personal zu gewöhnen, sodass ein Anstieg der Körpertemperatur durch bloßes Handling eher nicht in Frage kam. Von den Messergebnissen her gesehen lagen alle Hennen, auch jene, die einen Tiefstwert bzw. jene, die einen Höchstwert (40,2 °C zu ZP 5 und 42,0 °C zu ZP 2) erreicht hatten, in einem Schwankungsbereich, der auch in der Literatur angegeben wurde (Steinlechner 2010). Daraus könnte gefolgert werden, dass der Stressor nicht intensiv genug war, oder zu kurz anhielt, um einen Stress-relevanten Temperaturanstieg hervorzurufen. Nicht vollständig auszuschließen ist die Möglichkeit, dass nur eine geringe Temperaturerhöhung fixationsbedingt stattgefunden hätte, die jedoch durch die oben diskutierten Wärmeverluste mehr als korrigiert wurde.

5.7 Auswirkungen der Immobilisierung auf die Ergebnisse von Lern- und Verhaltensuntersuchungen im Y-Labyrinth

5.7.1 Trainingstage im Y-Labyrinth

Mit der Gewährung von Trainingstagen war die Absicht verbunden, die Hennen an das Labyrinth zu gewöhnen und gleichzeitig auf die ausgewählte Aufgabe (win-shift) vorzubereiten. In dieser Vorbereitungsphase war es bereits möglich, kognitive Leistungen der Tiere zu erkennen und auszuwerten. So konnte die Motivation, die Kooperation und der daraus resultierende Erfolg der Tiere anhand verschiedener Parameter beurteilt werden.

Einen ersten Verhaltenseindruck vermittelte beispielsweise die Auswertung des **Futtermittels** (Weizen in g pro kg Körpergewicht) im Verlauf aller Trainingstage. Die LB-Linie erreichte über die drei Trainingstage mittlere Werte im Bereich von

10,34-12,77 g/kg KG, dabei war der Anstieg von Trainingstag 2, der einen leichten Rückgang im Vergleich zum Trainingstag 1 verzeichnete, auf den Trainingstag 3 signifikant. Die LSL-Linie erreichte über die drei Tage Mittelwerte im etwas höherem Bereich von 12,19-13,23 g/kg KG, jedoch ohne signifikante Unterschiede. Für eine Signifikanz zwischen den Hybridlinien war dieser Verzehrunterschied aber nicht ausreichend.

Die Ergebnisse der mittleren **Fresszeit** (in min) verhielten sich parallel zu den Ergebnissen des Futterverbrauchs (Weizen in g/kg KG). Das heißt, stieg der Futterverbrauch an, so stieg auch die Fresszeit, verminderte sich der Futterverbrauch, so erfuhr auch die Fresszeit einen Einbruch. Konsequenterweise bedeutet das, dass die Hennen, mit steigender Fresszeit mehr Futter (Weizen in g/kg KG) aufnahmen. Die LB-Linie lieferte an den drei Trainingstagen Mittelwerte im Bereich von 0,99-1,28 min, die LSL-Linie lag mit den jeweiligen Mittelwerten zwischen 0,95 und 1,01 min nicht signifikant darunter.

Die o.g. längeren Fresszeiten der LB-Hennen lassen darauf schließen, dass sie nach dem Öffnen der Startbox den Futternapf schneller erreicht hatten als die LSL-Hennen. Denn alle Hennen hatten im Y-Labyrinth pro Lauf jeweils 15 Sekunden Zeit. So konnte eine längere Fresszeit einerseits durch schnelleres Laufen, oder andererseits über weniger Fehler erreicht werden. Im besten Fall wurde der belohnende Futternapf im richtigen Arm ohne Umweg über den falschen Arm direkt erreicht. Allerdings ergab die statistische Auswertung der Mittelwerte für **direkt richtige Läufe** pro Trainingstag (x aus 10), dass sich beide Hybridlinien hier nicht signifikant voneinander unterschieden und sogar recht ähnliche Werte aufwiesen. Die LB-Hennen schafften an den drei Trainingstagen zwischen 5,90 und 7,65 direkt richtige Läufe, die LSL-Hennen zwischen 5,95 und 7,75. Folglich liegt die Vermutung nahe, dass die braunen Hühner schneller und damit mit höherer Motivation im Labyrinth „mitarbeiteten“. Abgesehen davon erreichten beide Hybridlinien am ersten Trainingstag die größte Anzahl an direkt richtigen Läufen (LB: 7,65 und LSL: 7,75). Ein Trainingsfortschritt von Tag 1, über Tag 2 zu Tag 3 lässt sich somit nicht erkennen.

Diskussion

Vergleicht man die linienspezifischen Parameter Futterverbrauch und Fresszeit, fällt jedoch auf, dass die LB-Hennen zwar mehr Zeit zum Fressen (in min) zur Verfügung hatten, aber die LSL-Hennen den größeren Futterverbrauch (Weizen in g/kg KG) aufwiesen. Dies würde bedeuten, dass die LSL-Linie eine höhere **Fressgeschwindigkeit** aufwies. Eine Berechnung der Weizenaufnahme (in g/min) untermauert diese Annahme. Während die braunen Hühner im Mittel 17,23 g Weizen pro min pickten, kamen die weißen Hühner auf 17,95 g/min. Einer älteren Studie (Wood-Gush & Gower 1968) kann man entnehmen, dass junge Hähne einer braunen Leghorn Linie im Alter von 5-12 Monaten nach einem 24-stündigen Futterentzug während der ersten 3 min durchschnittlich 19,4-21,6 g Pellets aufnahmen. Dies entspricht einer Fressgeschwindigkeit von etwa 7 g/min. Obwohl die Hähne in diesem Alter sicher ein größeres Körpergewicht aufwiesen, als die Legehennen in diesem Alter, ist zu erkennen, dass die Hähne pro min wesentlich weniger Futter aufnahmen. Da sich Pellets strukturell nur geringfügig von Weizenkörnern unterscheiden, bietet die Futterstruktur keine Begründung für diesen Befund. Jedoch könnte die höhere Fressgeschwindigkeit der Hennen mit der zunehmenden Erfahrung zusammenhängen, dass ihnen im Labyrinth trotz richtiger Wahl des Armes nur wenig Zeit (max. 15 Sekunden) zum Picken der Weizenkörner blieb und sie deshalb zunehmend hektischer den Weizen aufnahmen.

Berücksichtigt man die Ergebnisse einer Studie von Schütz (2001), in der der Verzehr einer hochgezüchteten White Leghorn Linie mit dem ihrer Vorfahren verglichen wird, so findet man einen tendenziell höheren Futterverbrauch bei den auf Leistung gezüchteten Tieren. Diese bevorzugten die unmittelbare und direkte Futteraufnahme, also ohne Energie verschwendende Umwege, während die Vorfahren eine geringere Futteraufnahme zugunsten eines intensiveren Erkundungsverhalten aufwiesen. Da die LSL-Linie die LB-Linie hinsichtlich der Legeleistung übertrifft, könnte die höhere Fressgeschwindigkeit der weißen Hennen (gegenüber den Braunen) auch ähnlich zustande gekommen sein.

Anhand der beiden Verzehrparameter (Futterverbrauch und Fresszeit) lässt sich auch beobachten, dass die LB-Hennen die jeweils besten Verzehrswerte am Trainingstag 3 lieferten (der Weizenverbrauch und die Fresszeit steigerten sich signifikant), während die LSL-Hennen die besseren Ergebnisse an Tag 1 zeigten.

Betrachtet man allerdings die erreichte **Anzahl der direkt richtigen Läufe** (x aus 10) an den Aufenthaltstagen im Labyrinth, so zeigen beide Linien an Tag 1 den größten Erfolg. Eine mögliche Erklärung für ein solches Ergebnis wäre, dass sich beide Hybridlinien stark an der initialen Hilfestellung (roter Plastiknapf) orientierten und nach Wegfall dieser optischen Orientierungshilfe an den Trainingstagen 2 und 3 in ihrer Lernleistung abfielen. Allerdings scheint die LB-Linie, nachdem sie an Tag 3 den größeren Futterverbrauch mit analog langer Fresszeit aufwies, besser mit dem Wegfall der Hilfestellung zurechtgekommen zu sein, als die LSL-Linie. Vögel gelten bezüglich ihres Wahrnehmungsvermögens als Augentiere. Das wiederum bedeutet, dass auch die Orientierung hin zum Futter in erster Linie vom Visus des Tieres abhängig ist und ein Ausfall dieses Sinnesorganes von anderen Sinnesorganen nur schwer (bis gar nicht) zu kompensieren ist (Bohnet 2007). Im Vergleich mit anderen Sinnesorganen sind die Augen bei Vögeln besonders gut entwickelt und weisen relativ zum Körper eine enorme Größe auf (König & Liebich 2001). Nicht zuletzt aus diesem Grund eignen sich Vögel besonders gut für Verhaltenstests, bei denen „Steuerung“ auf dem Prinzip der Differenzierung von verschiedenen Farben beruht (Kuhne, Adler et al. 2011).

Obwohl sich beide Linien während des ersten Trainingstages nahezu gleich stark am roten Plastiknapf orientierten (im Mittel 7,65 direkt richtige Läufe bei Hennen der LB-Linie und 7,75 direkt richtige Läufe bei Hennen der LSL-Linie), ergab eine Überprüfung der **Aufmerksamkeit** (s. 3.5.2) beim zehnten Versuchslauf am Trainingstag 1, dass 13 (65 %) braune Hennen positiv abschnitten jedoch nur 9 (45 %) weiße Hennen. Diesen Sachverhalt anders ausdrückend haben nur 7 (35 %) LB-Hennen, jedoch 11 (55 %) LSL-Hennen den Aufmerksamkeitstest nicht bestanden.

Ein ähnliches Ergebnis zwischen LB- und LSL-Hennen lieferte die Beurteilung der **Gedächtnisleistung** (s. 3.5.2) vom Trainingstag 1 für Trainingstag 2. Insgesamt schafften 8 (40 %) LB-Hennen den Test, wohingegen nur 4 (20 %) LSL-Hennen zu einem ähnlich positiven Ergebnis kamen. 12 (60 %) LB- und 16 (80 %) LSL-Hennen fielen bei diesem Test durch. Dieser Test stellte für beide Linien eine besondere Herausforderung dar, die offensichtlich für die LSL-Hennen schwer anzunehmen war.

Besser hingegen verlief die Überprüfung der Gedächtnisleistung vom Trainingstag 2 für Trainingstag 3. Beide Linien steigerten die Leistung am Tag 3, die LSL-Linie sogar intensiv genug, um an die Leistung der LB-Linie anzuknüpfen. Ein positives Ergebnis lieferten 12 (60 %) Hennen bei beiden Linien, 8 (40 %) Hennen der jeweiligen Linie fielen durch diesen Test durch. Das Resultat der zweiten Gedächtnistestung zeigt, dass die LSL-Hennen durchaus das gleiche Potenzial wie die LB-Hennen aufweisen können. Die Tatsache, dass 60 % der Hennen beider Linien den zweiten Gedächtnistest bestanden haben, spricht dafür, dass es den Tieren möglich ist, Gelerntes mindestens 24 Stunden abzuspeichern. Da zur Überprüfung der Gedächtnisleistung ein Zeitraum von 24 Stunden auch in anderen Studien als sinnvolle und auswertbare Bedingung verwandt wurde, sind die vorliegenden Ergebnisse durchaus als repräsentativ anzusehen. Beispielsweise belegte Atkinson (2003) bei Hühnern, dass ein Vermeidungslernen mithilfe eines „ekelerregenden“ Geschmackes nach 24 Stunden nachvollziehbar zu lerntypischen Ergebnissen führt. Auch ein Experiment, das einerseits das Verhalten, und andererseits die kognitive Leistung von LSL-Küken im Zusammenhang mit Gedächtnisvermögen über ein Y-Labyrinth untersuchte, bediente sich zur Überprüfung des Erinnerungsvermögens eines Zeitraumes von 24 Stunden (Krause, Naguib et al. 2006).

Das schlechtere Abschneiden zwischen Trainingstag 1 und 2 (erster Gedächtnistest) liegt unter Umständen der Tatsache zu Grunde, dass die Hennen am Trainingstag 1 ausschließlich im Versuchsdurchgang (Trial) 10 die richtige Seite erlernt wählen konnten, während am Trainingstag 2 insgesamt alle 10 Trials für die erlernte Wahl der richtigen Seite zur Verfügung standen. Dies bedeutet, das Gedächtnis für die richtige Wahl konnte über das ständige Wiederholen der belohnenden richtigen Wahl trainiert werden, und in Konsequenz war für die Tiere dieses Gedächtnis für das richtige Verhalten an Tag 3 besser abzurufen.

Als ursächlich für den gravierenden Unterschied zwischen LB- und LSL-Hennen beim ersten Gedächtnistests, kann man vermuten, dass die schlechtere Leistung beim Aufmerksamkeitstest der LSL-Hennen am Tag 1, Trial 10, sich auf die Leistung des Gedächtnistestes auswirkte. Denn der erste Gedächtnistest am Trainingstag 2

konnte nur positiv gewertet werden, wenn auch der Aufmerksamkeitstest am Tag zuvor positiv verlief.

5.7.2 Lernversuchstage im Y-Labyrinth

Bei den Lernversuchen an den Tagen 1-3 mit dem Ziel des korrekten Ausführens der Anforderungen der win-shift-Strategie, sollten die beiden Parameter Futterverbrauch (Weizen in g/kg KG) und Fresszeit (in min) Aufschluss über vorhandene Lernerfolge bringen. Da unmittelbar vor Ausführung des Lernversuches 1 die Stressinduktion („Flügelkreuzen“) oder eine Kontrollbehandlung für 30 min stattfand, waren bei den Auswertungen nunmehr vier Tiergruppen (zwei Hybridlinien und zwei Behandlungsgruppen) zu berücksichtigen und zu beurteilen.

Im **Futterverbrauch** lag die LB-Kontroll-Gruppe an den drei Versuchstagen mit 11,37-12,15 g/kg KG in einem recht engen Bereich ohne Signifikanzen. Die LB-Stress-Gruppe hingegen steigerte sich im Verlauf der drei Versuchstage signifikant von 10,88 auf 13,91 g/kg KG. Bei der LSL-Kontroll-Gruppe stieg der Futterverbrauch von 14,28 auf 16,90 g/kg KG an, bei der LSL-Stress-Gruppe lag der Weizenverbrauch etwas niedriger zwischen 11,95 und 15,69 g/kg KG. Der Anstieg des Verbrauches zeigte aber keine signifikanten Unterschiede. Auch der Vergleich der Linien brachte keine signifikanten Unterschiede hervor, obwohl, wie bereits auch bei den Trainingsläufen zu beobachten war, die LSL-Hennen mehr Weizen aufnahmen. Nachdem die LB-Kontroll-Gruppe niedrigere Futterverbrauchswerte aufwies, als die LB-Stress-Gruppe, die Ergebnisse bei der LSL-Linie jedoch genau umgekehrt verliefen, lässt sich eine einheitliche bzw. systematische Auswirkung des Stressors auf den Futterverbrauch nicht unbedingt ableiten.

Bei der **Fresszeit** (in min) steigerte sich die LB-Kontroll-Gruppe von 1,04 auf 1,16 min. Die LB-Stress-Gruppe vergrößerte die Fresszeit parallel zum Futterverbrauch von Versuchstag 1 über Versuchstag 2 zu Versuchstag 3 signifikant. Der Einstieg erfolgte mit 0,90 min, stieg auf 1,18 min, und schließlich auf 1,24 min. Umgekehrt verhielt sich der signifikante Anstieg bei der LSL-Linie. Die Kontrolltiere steigerten

ihre Fresszeit von 0,97 min (Tag 1) auf 1,31 min (Tag 3) signifikant, wohingegen die Stresstiere von Tag 1 zu Tag 3 Fresszeiten von 0,79 min und 1,15 min (ohne Signifikanz) erreichten. Der Vergleich aller vier Tiergruppen brachte keine signifikanten Unterschiede hervor. Weniger deutlich als während der Trainingstage, zeigte sich hier während der Lernversuche der Unterschied in der Fresszeit zwischen der LB- und LSL-Linie. Auffällig ist aber, dass die LSL-Stress-Gruppe die geringste Fresszeit erreichte. Möglicherweise deutet sich hier doch ein Zusammenhang zur Stressinduktion an.

Betrachtet man das Gesamtbild zu den beiden Parametern Futterverbrauch und Fresszeit, so entsteht der Eindruck, dass sich die Lernleistung der Tiere im Verlauf der drei Versuchstage mit den Lernversuchen steigerte.

Die Auswertung der **Fressgeschwindigkeit** (in g/min) brachte zum Vorschein, dass abermals die LSL-Hybridlinie schneller Weizen pickte als die LB-Hybridlinie. Zusätzlich könnte dieser Parameter einen Hinweis auf einen steigenden Einfluss des Stressors geben, da sowohl die LB-Stress-Gruppe mit einem Mittelwert von 19,14 g/min, als auch die LSL-Stress-Gruppe mit einem Mittelwert von 22,06 g/min über den Werten der beiden Kontrollgruppen (LB: 18,00 g/min und LSL: 20,56 g/min) lagen.

Beim Erlernen der win-shift-Strategie hatten die Tiere an den Versuchstagen 2 und 3 bei Auswahl des falschen Armes die Möglichkeit, die Richtung zu korrigieren, um nach einer ersten Fehlentscheidung in diesem Trial doch noch den Futternapf mit Weizen zu erreichen. Dabei ließen sich beim Vergleich der **Anzahl der Korrekturen** in den vier Tiergruppen Unterschiede erkennen, die jedoch nicht signifikant sind. Die Kontrollgruppen zeigten öfter Korrekturen (LB-Kontrolle 29,5 %, LSL-Kontrolle 20,5 %) als die Stressgruppen (LB-Stressor 26,5 % und LSL-Stressor 17,5 %). Das heißt, von insgesamt 20 Läufen an den Versuchstagen 2 und 3 wurden zwischen 3,5 (entspricht 17,5 %) und 5,9 (entspricht 29,5 %) Läufe korrigiert. Sichtbar wurde hier aber auch, dass die LB-Linie häufiger korrigierte, als die LSL-Linie. Berücksichtigt man an sämtlichen Labyrinthtagen (Trainings- und Versuchstage) die Zahl der Korrekturen nach einer falschen Wahl, so fällt auch hierbei auf, dass die LB-Hennen häufiger die Richtung korrigierten als die LSL-Hennen. Bei maximal 50 Läufen im

Diskussion

Labyrinth, die auch die Chance zur Korrektur ermöglichten, zeigte sich, dass ca. 20 % der Läufe bei den LB-Hennen berichtigt wurden, wohingegen nur ca. 10 % der Läufe bei den LSL-Hennen eine Berichtigung erfuhren.

Die Auswertung der **direkt richtigen Läufe** (x von 10) zeigte, dass sich die LB-Kontrolltiere an den drei Versuchstagen im Mittel zwischen 5,20 und 7,00 mal direkt richtig entschieden. Die LB-Stress-Gruppe lag mit ihren direkt richtigen Entscheidungen im Bereich von 5,80 und 6,50. Die LSL-Kontroll-Gruppe lief zwischen 5,50 und 6,80 mal richtig, die Stressgruppe der LSL-Linie zwischen 4,10 und 5,70 mal. Auffallend ist, dass bei allen vier Tiergruppen die größte Anzahl der direkt richtigen Läufe am Versuchstag 1 zu verzeichnen war. Wahrscheinlich half hier die gewählte Hilfestellung in Form des roten Plastiknapfes. Die Hennen nehmen die Farbe als deutliches Signal wahr und können sich so leichter spontan für die richtige Richtung entscheiden. Weiterhin ist auffallend, dass die LSL-Stress-Gruppe die geringste Anzahl an direkt richtigen Läufen aufwies. Dennoch handelt es sich nicht um ein signifikantes Ergebnis, das aber deutlich mit den mittleren Fresszeiten der LSL-Stress-Gruppe im Zusammenhang steht, da diese auch die geringsten Werte aufwiesen.

Betrachtet man zusätzlich die Mittelwerte der richtigen Läufe, die auch Korrekturläufe (**Anzahl richtiger Läufe mit Korrektur**) mit beinhalten, so ergibt sich eine Anhebung der Werte nach oben. Die LB-Kontroll-Gruppe lief dann an den drei Versuchstagen zwischen 7,00 und 8,60 mal richtig, die LB-Stress-Gruppe zwischen 6,50 und 8,70 mal. Bei der LSL-Kontroll-Gruppe lagen die Werte zwischen 6,80 und 8,40 und bei der LSL-Stress-Gruppe zwischen 5,70 und 7,40. Nachdem am Versuchstag 1 nicht korrigiert werden konnte, da hier nach einer Entscheidung für einen Arm der Rückweg blockiert wurde, zeigte dieser Tag 1 bei allen Gruppen den geringsten Lernerfolg. Mit einer Steigerung der Anzahl der richtigen Läufe mit Korrektur über Tag 2, brachte der abschließende Versuchstag 3 die besten Ergebnisse. Diese ansteigende Leistung basiert allem Anschein nach darauf, dass die Hennen die Strategie der Korrektur mitentwickelten, um so mehr Weizen aufnehmen zu können.

Auch bei diesem Parameter (Anzahl richtiger Läufe mit Korrektur) ist auffällig, dass die Lernleistung der LSL-Stress-Gruppe unter derer der anderen Gruppen lag. Somit

Diskussion

erklärt sich auch folgender Zusammenhang: Die LSL-Linie neigt weniger zur Korrektur initialer Fehler, steigert somit auch nur gering die Anzahl der richtigen Läufe mit Korrektur und erreichte so die kürzerste Fresszeit. Bemerkenswert ist allerdings, dass sich dies nicht auf den Futterverbrauch auswirkte, da hier keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Linien zu finden waren. Offensichtlich konnte die kürzer zur Verfügung stehende Fresszeit mit einer erhöhten Fressgeschwindigkeit kompensiert werden.

Um letztendlich zu erkennen, ob die Tiere die Anforderung von win-shift verstanden haben, macht es Sinn an jedem Versuchstag die Anzahl der Läufe zu bewerten, welche die einzelnen Tiere **direkt hintereinander korrekt** absolvierten. Der Erfolg war am Versuchstag 1 bei allen Gruppen, außer der LSL-Kontroll-Gruppe am größten (mittlere Werte zwischen 3,40 und 4,80 mal direkt hintereinander richtig). Die LSL-Kontroll-Gruppe konnte am dritten Versuchstag die beste Leistung erbringen. Eine Logik hierfür lässt sich allerdings nicht erkennen. Für die besseren Ergebnisse am ersten Versuchstag dürfte der rote Signalnapf ursächlich sein. Die Hennen scheinen vorrangig über optische Reize zu lernen. Logische Reihenfolge und Konsequenz, basierend auf entsprechenden Strategien, waren den Tieren eher schwer zugänglich. Dennoch lieferten die Hennen, die das Problem am besten lösten, Läufe mit durchschnittlich 5-6 richtigen Entscheidungen direkt hintereinander. Die Tiere mit der schlechtesten Leistung kamen lediglich auf durchschnittlich 1-3 korrekte Läufe direkt hintereinander. In dieser schlechten Gruppe ist wiederum das relativ schlechte Abschneiden der LSL-Stress-Gruppe zu beobachten.

Zusammenfassend bleibt zu erwähnen, dass der Aufmerksamkeitstest und auch der Gedächtnistest durchaus mit einem gewissen Erfolg durchgeführt werden konnten. Die weiteren Ergebnisse sprechen jedoch dafür, dass die Hennen völlig unabhängig von der Stressinduktion mit den Anforderungen der win-shift-Strategie überfordert waren. Dies äußerte sich zwar nicht in einer Verweigerungshaltung, aber die Auswertung ihrer Vorgehensweise lässt vermuten, dass die Hennen über bereits vorhandene oder dafür selbst entwickelte, einfachere Methoden die Weizenaufnahme forcierten. Auch wenn der Futterverbrauch (Weizen in g/kg KG) und die Fresszeit (in min) im Verlauf der Versuche 1-3 zunahmen, spricht einerseits die steigende Anzahl der direkt richtigen Läufe einschließlich Korrektur und

andererseits die abnehmende Anzahl der richtigen Läufe ohne Korrektur klar gegen ein Verstehen der Aufgabe. Unterstützt wird diese Annahme auch durch die geringe Anzahl an richtigen Läufen direkt hintereinander. Hier erzielte die LB-Kontroll-Gruppe am ersten Versuchstag den besten Wert (4,8 mal von 10), das entspricht einer Quote von weniger als 50 %. Zu berücksichtigen ist jedoch, dass der erste Versuchstag durch das Verwenden des roten Signalnapfes generell zu verbesserten Ergebnissen führte. Dass für die Hennen die win-shift-Strategie nur schwer bis nicht zugänglich ist, zeigen auch die Ergebnisse, die Lipp (2001) aus seinen Untersuchungen erhielt.

Wegen dieser offensichtlichen Überforderung der Hennen bei den gegebenen Anforderungen im Labyrinth, ist auch die Auswirkung des Stressors schwierig zu beurteilen. Kein Ergebnis liefert im Vergleich der Gruppen statistisch abgesicherte signifikante Unterschiede. Dennoch lassen einige Parameter eine Beeinflussung durch Stress vermuten. Zu erwähnen wäre hierfür die Tendenz einer höheren Fressgeschwindigkeit bei den Stresstieren beider Linien. Des weiteren fällt wiederholt auf, dass die LSL-Stress-Gruppe tendenziell durchschnittlich schlechtere Werte lieferte. Beispielsweise wurde bei dieser Gruppe die geringste mittlere Fresszeit (in min), die wenigsten direkt richtigen Läufe, eine geringere Anzahl an richtigen Läufen mit Korrektur sowie auch die wenigsten richtigen Läufe direkt hintereinander ermittelt. Anhand der im Labyrinth gegebenen Möglichkeit einer Laufkorrektur lässt sich erkennen, dass neben den LSL-Stresstieren auch die LB-Stresstiere begangene Lauffehler weniger korrigierten. Insgesamt gesehen korrigierten Hennen der LSL-Linie jedoch tendenziell weniger oft als die Hennen der LB-Linie, vor allem die LSL-Stresstiere verzeichneten abermals den niedrigsten Wert.

Letzteres könnte auf das Vorhandensein von Verhaltensunterschieden in beiden Linien hindeuten. LB-Hennen scheinen die Aufgaben im Labyrinth mehr lösungsorientiert (Korrekturlauf, um Weizen picken zu können) bestritten zu haben, als die LSL-Hennen. Die braunen Hennen scheinen den weißen überlegen, indem sie mehr Flexibilität und Ausgeglichenheit („innere Ruhe“) hervorbrachten. Die übereilte Hektik der LSL-Hennen stellte sich anhand der höheren Fressgeschwindigkeit klar dar, und wirkte sich wohl unter anderem auf das Korrekturvermögen bei einem „falschen“ ersten Lauf negativ aus. Sie wechselten deutlich weniger den Arm, falls sie im Labyrinth bei der ersten Wahl den Arm mit dem

nicht belohnenden leeren Fressnapf ausgesucht hatten. Das schlechte Abschneiden der LSL-Stress-Gruppe lässt vermuten, dass die LB-Stress-Gruppe die Stressinduktion besser kompensieren konnte.

Bezüglich der Eignung Versuchsaufbaus bleibt zu erwähnen, dass der Einsatz des Y-Labyrinths zur Darstellung kognitiver Fähigkeiten bei Legehennen durchaus eine praktikable Methode der Wahl darstellt. Die Hennen ließen sich sehr schnell an das Labyrinth gewöhnen und sie brachten auch genug Motivation hervor, um mit ihnen entsprechend der vorgegebenen Strategie arbeiten zu können. Keine der 40 Hennen musste aufgrund einer Verweigerungshaltung aus dem Versuch rausgenommen werden. Dennoch bleibt abzuwägen, ob man das Labyrinth lediglich für Verhaltensbeobachtungen oder auch für das Erkennen kognitiver Leistungen heranzieht. Letzteres erfordert die Vorgabe von Aufgaben, die sich bekanntermaßen für Hennen eignen.

Dass im Labyrinth durchaus Verhaltensmuster von Hennen erkannt werden können, zeigt ein Experiment von Schütz (2001). Dort wurde mit einem 4-armigen Labyrinth gearbeitet, das Unterschiede im Verhaltensmuster einer hochgezüchteten Legelinie und deren Vorfahren aufzeigen sollte. In diesem Fall führte der Einsatz des Labyrinths auch zu statistisch auswertbaren Ergebnissen.

Sollen im Labyrinth auch die Lern- und Gedächtnisleistung von Hühnern erfasst werden, so muss der Schwierigkeitsgrad der Aufgaben und die besondere Sinnesleistungen der Vögel („Augentier“) besondere Berücksichtigung finden. Die hervorragende visuelle Orientierung von Vögeln bestätigte eine Studie (Patterson-Kane, Nicol et al. 1997), die ebenfalls ein Y-Labyrinth einsetzte, um zu Erkennen, ob Hühner zwischen echten optischen Reizen und Videoaufnahmen unterscheiden können. Unter anderem wurde hier mit grünen und roten Signalfarben trainiert. Auch hier zeigte sich der Einsatz eines Y-Labyrinths als praktikabel.

Variiert die Aufgabe im Labyrinth ohne Unterstützung durch einen optischen Reiz, so bedeutet dies eine erhebliche Einschränkung des Testverfahrens bei Hühnern.

Relativ einfach gehalten war ein Versuch von Lindqvist (2009), bei dem Hennen in einem T-förmigen Labyrinth erlernen mussten, auf welcher Seite sich der belohnende

Futternapf befand. Es sollte damit die Fähigkeit zur räumlichen Orientierung überprüft werden. Da jedes Versuchstier bei jedem Versuchsdurchgang auf der selben Seite belohnt wurde, konnte mit Hilfe von Wiederholungen durchaus ein Lernerfolg verzeichnet werden.

Einen Versuch, der in einem Y-Labyrinth durchgeführt wurde beschrieb Krause (2006). Futter befand sich in den beiden Armen an unterschiedlichen Stellen, die, von der Startbox aus gesehen, jeweils auch unterschiedlich gut einsehbar waren. Der Versuchsaufbau erwies sich hierbei ebenfalls erfolgreich und brachte die Erkenntnis, dass Küken, denen kurzzeitig Freilauf gewährt worden war, eine bessere Leistung erbrachten. Sie wiesen ein deutlicheres Erkundungsverhalten auf, lernten schneller und begingen im Labyrinth weniger Fehler.

Ein weitaus komplexer angelegtes Experiment von Lipp (2001) untersuchte die kognitive Leistung bei verschiedenen Säugetieren und verschiedenen Vögeln. Zum Einsatz kam ein 8-armiges Labyrinth mit zur Tierart passenden Ködern, die in sämtlichen Armen gleichzeitig platziert wurden. Die hierbei gewonnen Erkenntnisse veranlassen erste Zweifel an der Eignung eines Labyrinthes für Hühner, wenn keine optisch unterstützenden Signale gewährt werden. Hühner schnitten letztendlich am schlechtesten ab und zeigten auch bei intensivem Training mit Wiederholung der Aufgabe keine bzw. nur sehr geringe Lernfortschritte.

Berücksichtigt man vor diesem literarischen Hintergrund die Ergebnisse unserer Studie, so erscheint es nachvollziehbar, dass die einfachen Aufgaben aus den Trainingstagen für die Hennen gut bewältigbar waren. Die Auswertung der win-shift-Versuche lässt allerdings vermuten, dass die Hühner mit dieser Strategie überfordert waren. Allerdings geht dabei nicht hervor, ob die Aufgabe mithilfe von deutlich mehr trainingsbedingten Wiederholungen irgendwann doch zu verstehen gewesen wäre. Dagegen sprechen allerdings die Erfahrungen aus der Studie, die bei der Verwendung eines 8-armigen Labyrinths gewonnen wurden. Trotz eines Trainings mit insgesamt 15 Lektionen, kam es bei Hühnern zu keinem signifikanten Lernerfolg (Lipp, Pleskacheva et al. 2001).

Wegen dieser offensichtlichen Überforderung durch die win-shift-Strategie lässt sich auch der Einfluss von körperlichem Stress auf das Verhalten und die kognitiven Leistungen der Hennen nicht eindeutig herausarbeiten. Nachdem aber in der Studie von Lindqvist (2009) der negative Einfluss von Stress auf kognitive Leistungen nachgewiesen werden konnte, liefern die tendenziellen Veränderungen in unseren Untersuchungen doch mehr als nur Anhaltspunkte für einen negativen Stresseinfluss insbesondere bei LSL-Hennen. Für ein deutlicheres statistisch abgesichertes Ergebnis wäre es eventuell sinnvoll gewesen, zuerst eine Aufgabe durch Testung im Labyrinth auszuwählen, aus der klar hervorgeht, dass Hennen in der Lage sind, diese zu erlernen. Dann erst könnte mit dieser Aufgabe getestet werden, ob gestresste Hennen bessere oder schlechtere kognitive Fähigkeiten zeigen.

5.8 Gibt es Unterschiede in physiologischen Merkmalen von Hybridlegelinien?

Verschafft man sich einen Überblick bezüglich tatsächlich vorherrschender signifikanter Unterschiede bei beiden Hybridlegelinien oder bezüglich der Ergebnisse, die zumindest einen Trend in Richtung Linienunterschied aufzeigen, so bleibt folgendes festzuhalten:

Die Auswertung der Befreiungsversuche ergab, dass Hennen der LSL-Linie sich der Zwangsmaßnahme tendenziell weniger widersetzen als Tiere der LB-Linie. Wenn sie sich tatsächlich befreien, so war der Stress hierfür größer, denn nur bei der LSL-Linie ließ sich die Existenz einer positiven Korrelation zwischen der Anzahl der Befreiungsversuche und der Kortikosteronkonzentration im Blutplasma nachweisen.

Die LSL-Stress-Gruppe zeigte nach Stressende einen signifikant länger anhaltenden Kortikosteronanstieg im Blutplasma als Stressreaktion als die LB-Stress-Gruppe.

Die Ermittlung der Blutglukose ergab bei der LSL-Linie keinen ähnlich klaren Hinweis auf die Existenz eines Stressors. Sowohl die Stressgruppe, als auch die Kontrollgruppe wies zu allen Meßzeitpunkten eine signifikant höhere

Diskussion

Blutglukosekonzentration auf als zum ZP 0. Somit scheint in jedem Fall das Handling (Fixation=Stress; Kontroll-Ruhephase=verminderter Glukoseverbrauch) von Tieren der LSL-Linie einen Anstieg der Blutglukosewerte zu veranlassen.

Im Verhaltensversuch suggerierten die LSL-Hennen im Vergleich zu den LB-Hennen eine Leistung mit Defiziten. Dies zeigte sich tendenziell vor allem in der kürzeren Fresszeit, der höheren Fressgeschwindigkeit, der geringeren Anzahl von Korrekturläufen und im schlechteren Abschneiden beim Aufmerksamkeitstest.

Das heißt, auch die hier vorliegenden Ergebnisse können den allgemein geltenden subjektiven Eindruck nur verstärken, aber nicht eindeutig bestätigen, dass weiße Hühner auf Einflüsse von außen mit mehr Erregtheit, Hektik und auch Ängstlichkeit reagieren als braune Hühner. Ganz ähnliche Ergebnisse zeigten sich in der Studie von Fraise (2006). Er ermittelte bei den weißen Hennen eine signifikant stärkere Stressreaktion auf Handling, gemessen anhand der Kortikosteronkonzentration im Blutplasma, und eine signifikant länger andauernde tonische Starre.

Bei beiden Legelinien handelt es sich um Hybriden, die auf Höchstleistung (Legeleistung) selektiert werden. Dabei wird die LB-Linie in ihren Leistungsmerkmalen noch von der LSL-Linie übertroffen. Dieses Mehr an Höchstleistung (bzw. an körperlicher Belastung) könnte somit ursächlich mit den tendenziell schlechteren Studienergebnisse seitens der LSL-Linie verknüpft sein. In diesem Zusammenhang beschreibt Lindqvist (2009), dass Hochleistungstiere ein Übermaß an Energie für den jeweiligen Leistungsparameter aufwenden, und so nur noch über wenig „Restenergie“ verfügen, um die übrigen Lebensprozesse ausreichend zu unterstützen. In Konsequenz könnten sich daraus Defizite im körperlichen Umgang mit Stress und in der Anpassungsfähigkeit an sich spontan ändernden Lebens- bzw. Umweltbedingungen ergeben.

6 Zusammenfassung

Ziel dieser Studie war es, die Auswirkungen von körperlichem Stress auf Legehühner zweier verschiedener Hybridlinien (Lohmann Brown, n=48 und Lohmann Selected Leghorn, n=54) darzustellen und zu beurteilen. Als gut reproduzierbare Stressmaßnahme diente eine Praxis-übliche 30-minütige körperliche Fixation der Tiere durch Kreuzen der Flügel und Ablage des Tierkörpers auf einer Gummimatte auf dem Fußboden. Körperlich nicht fixierte Kontrolltieren verbrachten ebenfalls 30 min in einer leeren abgedunkelten Kartonbox. Die anschließende Darstellung und Beurteilung des Stresserfolges durch die körperliche Fixation erfolgte im Vergleich zur Kontrollsituation in zwei unterschiedlichen Bereichen: Einerseits mittels Blutentnahme nach einem einheitlichen Beprobungsschema und der analytischen Darstellung des Konzentrationsverhaltens ausgewählter, bekanntermaßen Stress-relevanter Blutparameter (Kortikosteron, Glukose, Harnsäure und Freie Fettsäuren) und über die Ermittlung der Körpertemperatur, und zwar jeweils innerhalb eines Beobachtungszeitraumes von 0-135 min. Andererseits wurde die kognitive Leistung der Hennen anhand der Abwicklung verschiedener Aufgaben in einem Y-förmigen Lauflabyrinth beurteilt.

Von der Bestimmung und der statistischen Auswertung der Hormonkonzentration von Kortikosteron im Blutplasma wurde erwartet, dass sie im direkten Zusammenhang mit der erfolgten Stressreaktion der Tiere steht. Tatsächlich konnte festgestellt werden, dass alle „gestressten“ Hennen, der LB-Linie und der LSL-Linie, unmittelbar nach Beendigung der 30-minütigen Stressmaßnahme im Vergleich zur Ausgangssituation eine signifikant höhere mittlere Kortikosteronkonzentration (25,6 nmol/l vs. 13,5 nmol/l, LB-Linie bzw. 27,5 nmol/l vs. 9,3 nmol/l, LSL-Linie) im Blutplasma aufwiesen. Die Kontrolltiere beider Linien wiesen nach 30 min Aufenthalt in einer Box einen Kortikosteronmittelwert von ca. 7,4 nmol/l auf. Allerdings zeigte sich auch, dass die 30 min lang induzierte Stressreaktion nur kurzzeitig anhielt, da im Verlauf des Beobachtungszeitraumes bereits 15 min (LB-Hybridlinie) bzw. 75 min (LSL-Hybridlinie) nach Beendigung der körperlichen Fixation, ein signifikant erhöhter Kortikosterongehalt nicht mehr nachzuweisen war.

Zusammenfassung

Ähnlich auffällig verhielt sich auch die mittlere Glukosekonzentration im Blutplasma während der Beobachtungsperiode. Sie stieg direkt nach Beendigung der Stressmaßnahme bei beiden Hybridlinien signifikant an (auf 12,9 mmol/l von 11,8 mmol/l, LB-Hybridlinie bzw. auf 12,9 mmol/l von 11,4 mmol/l, LSL-Hybridlinie). Die Hennen aus den Kontrollgruppen zeigten hingegen nach 30 min Werte im Bereich von 12,0-12,1 mmol/l. Im Gegensatz zur zeitlich auftretenden deutlich befristeten Kortikosteron-Konzentrationserhöhung, blieb die Glukosekonzentration nach dem Stress bei der LSL-Hybridlinie bis zum Ende des Beobachtungszeitraumes (entspricht 105 min nach Stressende) erhöht. Bei den Hennen der LB-Hybridlinie normalisierte sich der Glukosespiegel ähnlich zum Verlauf der Kortikosteronkonzentration bereits deutlich früher (30 min nach Stressende).

Keine weiteren Aufschlüsse hinsichtlich der erfolgten Stressmaßnahme erbrachten die Konzentrationsverläufe der Blutparameter Harnsäure und Freie Fettsäuren. Es ergab sich unmittelbar nach Stressende (30 min) aber auch zu keinem weiteren Zeitpunkt im Beobachtungszeitraum ein signifikanter Unterschied zwischen gemittelten Meßwerten bei den Kontroll- und den Stressgruppen.

Bei beiden Linien war auch anhand der Körpertemperatur eine Stresswirkung nicht unmittelbar erkennbar. Es wurden zu allen Meßzeitpunkten Temperaturen im Bereich von 40,2-42,0 °C gemessen. Das unerwartete signifikante Absinken der mittleren Körpertemperatur bei den „gestressten“ Hennen beider Linien direkt nach Beendigung der Stressmaßnahme (auf 41,1 °C von 41,5 °C, LB-Hybridlinie bzw. auf 41,1 °C von 41,4 °C, LSL-Hybridlinie) und im weiteren Verlauf des Beobachtungszeitraumes (41,1-41,3 °C, LB-Hybridlinie bzw. 41,2-41,3 °C, LSL-Hybridlinie) dürfte lagerungsbedingt (auf dem Fußboden) zustande gekommen sein.

Die Überprüfung kognitiver Leistungsparameter im Y-Labyrinth unmittelbar nach der Stresseinwirkung ergab keine signifikanten Abweichungen gegenüber der absolvierten Leistung der nicht „gestressten“ Hennen. Es zeigten sich jedoch bei einigen Parametern Tendenzen einer Stress-abhängigen Veränderung der Leistung im Labyrinth (höhere Fressgeschwindigkeit, geringere Fehlerkorrektur und geringere Fresszeit) insbesondere bei der LSL-Linie.

Zusammenfassung

Beim direkten Vergleich beider Hybridlinien bezüglich „Stressempfindlichkeit“ war festzustellen, dass die signifikant erhöhte mittlere Kortikosteronkonzentration im Blutplasma nach Beendigung der körperlichen Fixation bei der LSL-Linie länger anhielt (75 min) als bei der LB-Linie (15 min). Der Vergleich der linienspezifischen mittleren Blutglukosekonzentrationen im Beobachtungszeitraum ergab, dass neben den beiden „gestressten“ Tiergruppen (LB-Hennen und LSL-Hennen) auch die LSL-Kontroll-Gruppe nach dem 30-minütigem Aufenthalt in einer Box (zu den Zeitpunkten 1, 2, 3, 5) signifikant höhere Werte aufwies. Die mittlere Blutglukosekonzentration der LB-Kontroll-Gruppe war während der gesamten Beobachtungszeit unauffällig. Der mittlere Konzentrationsverlauf der Harnsäure und der Freien Fettsäuren im Blutplasma, sowie der Verlauf der Körpertemperatur ergaben keine Hinweise auf linienspezifische Unterschiede. Die Verhaltensuntersuchungen im Y-Labyrinth deuten an, dass die LSL-Linie ,v.a. in der Stresssituation, zwar nicht signifikant, aber dennoch tendenziell durchgängig geringere kognitive Fähigkeiten (geringere Restzeiten für die Futteraufnahme, geringere Zahl von Lauf-Korrekturen und Defizite in der Aufmerksamkeit) aufweist.

Die Eignung des „Flügelkreuzens“ beim Huhn als standardisierbares, gut reproduzierbares Stressmodell, sowie die Eignung der hier erfaßten Parameter zur Darstellung von Intensität und Dauer einer Stressreaktion werden unter Einbindung bereits publizierter relevanter Erkenntnisse diskutiert.

7 Summary

Stress-reactivity in laying-hens of two hybrid-lines (LB and LSL) after physical immobilization (“wing-crossing”): Body temperature, the time related concentration course of selected blood parameters and cognitive performance evaluated in a y-maze for the assessment of stress

The aim of this study was to investigate and to evaluate the effects of an induced physical stress on hybrid-laying-hens (Lohmann Brown, n=48 and Lohmann Selected Leghorn, n=54). An easily reproducible stress-method has been used. Physical immobilization has been induced by crossing the wings of the hens and laying them down on a rubber mat at the floor for 30 min. Not immobilized hens served as a control and spent 30 minutes in an empty darkening box. Description and evaluation of the stress-event occurred in comparison to the control-situation in two different fields: On the one hand by blood sampling according to a standardized procedure, followed by analysing the concentration of several known stress-sensitive blood-parameters (corticosterone, glucose, uric acid and non esterified fatty acids) and by measuring the body temperature all within a monitoring period of 0-135 min. On the other hand cognition performance of “stressed” and “non-stressed” laying-hens was assessed by the use of a y-maze.

The concentration of corticosterone in blood plasma was expected to be directly associated with the stress-reaction of the animals. Indeed, all “stressed” hens, LB-hens and LSL-hens, showed immediately after the 30 minutes stress-period a significant higher mean corticosterone concentration in the blood plasma compared to the starting situation (25.6 nmol/l vs. 13.5 nmol/l, LB-hens and 27.5 nmol/l vs. 9.3 nmol/l, LSL-hens). “Non-stressed” hens of both lines showed very similar mean corticosterone concentrations of about 7.4 nmol/l. However, it was also shown, that the after-effects of the stress-reaction occurred only for a short time. A significant difference could not be discovered already at 15 min (LB-hens) and at 75 min (LSL-hens) respectively after the end of the physical stress.

Summary

The time related course of the mean glucose concentration was similar to that of the mean concentration of corticosterone. Immediately after wing-crossing glucose concentration rose significantly within both hybrid-laying-hens (to 12.9 mmol/l from 11.8 mmol/l, LB-hens and to 12.9 mmol/l from 11.4 mmol/l, LSL-hens). The control hens showed after 30 min values for glucose in a range between 12.0 and 12.1 mmol/l. In contrast to the timely restricted increase of the corticosterone concentration, the concentration of glucose showed significantly higher values over the whole observation period (LSL-hens, 105 min after stress). In LB-hens the glucose level normalized similarly to the corticosterone concentration (at 30 min after stress).

The time course of the concentration of uric acid and non esterified fatty acids in blood plasma did not offer additional stress-related information. Regarding all concentration mean values of these parameters in “stressed” and in “non-stressed” hens there was no significant concentration difference at the end of stress (30 min) and at all other times of sampling blood.

An influence of the stressor on body temperature could not be found in hens of both hybrid-lines. During the observation period body temperature ranged between 40.2 and 42.0 °C. A significant lowering of body temperature in “stressed” hens of both hybrid-lines at the end of stress (to 41.1 °C from 41.5 °C, LB-hens and to 41.1 °C from 41.4 °C, LSL-hens) and also during the succeeding observation period (up to 135 min; 41.1-41.3 °C, LB-hens and 41.2-41.3 °C, LSL-hens) was found. The finding could be caused by the depositing of the immobilized hens on the floor.

The examination of the cognitive performance of the hens by using a y-maze indicated no significant stress-effect. “Stressed” and “non-stressed” hens showed similar results. However, some parameters (higher speed of feeding, lower correction of mistakes and lower feeding time) notably within LSL-hens, showed the tendency of a stress-related change.

Regarding the stress-sensitivity of both hybrid-laying-hens, there was a remarkable difference in the duration of their significantly increased mean corticosterone concentration. LSL-hens kept the corticosterone level up to 75 min after the stress whereas LB-hens kept their level up to 15 min. Comparing the blood glucose

Summary

concentrations in both lines indicated significant higher levels in both “stressed” groups (LB-hens and LSL-hens) but also in “non-stressed” LSL-hens which had spent 30 min in a box. The mean concentration of blood glucose in the “non-stressed” LB-hens showed no change at all times. The mean concentration of uric acid and of non esterified fatty acids in blood plasma and in the time course of the body temperature showed no hybrid-line specific difference. Testing the hens’ behaviour in the y-maze indicated that LSL-hens may have deficits in their cognitive performance. Especially after the stressing their cognitive performance yield showed the tendency of being lower (lower rest feeding time, lower correction of mistakes and deficits of paying attention).

In this study, the method of crossing the wings of hens, as a standardised and highly reproducible stress-model, as well as the analysed blood parameters as a measure for the intensity and the duration of a stress-reaction are discussed using already published findings.

8 Literaturverzeichnis

Ait-Boulahsen, A., Garlich, J. D. & Edens, F. W. (1989). Effect of fasting and acute heat stress on body temperature, blood acid-base and electrolyte status in chickens. *Comparative Biochemistry and Physiology. Part A Physiology* **94A**(4): 683-687.

Albentosa, M. J., Kjaer, J. B. & Nicol, C. J. (2003). Strain and age differences in behaviour, fear response and pecking tendency in laying hens. *British Poultry Science* **44**(3): 333-344.

Atkinson, R., Bevilacqua, L. R. M., Rostas, J. a. P. & Hunter, M. (2003). Discriminative taste aversion learning: A learning task for older chickens. *Neurobiology of Learning and Memory* **79**: 25-31.

Bedanova, I., Voslarova, E., Chloupek, P., Pistekova, V., Suchy, P., Blahova, J., Dobsikova, R. & Vecerek, V. (2007). Stress in Broilers Resulting from Shackling. *Poultry Science* **86**(6): 1065-1069.

Beuving, G. & Vonder, G. M. (1981). The Influence of Ovulation and Oviposition on Corticosterone Levels in the Plasma of Laying Hens. *General And Comparative Endocrinology* **44**: 382-388.

Beuving, G. & Vonder, G. M. A. (1978). Effect of stressing factors on corticosterone levels in the plasma of laying hens. *General and Comparative Endocrinology* **35**(2): 153-159.

Bohnet, N. E. (2007). Augenuntersuchung beim Vogel
Eine interaktive CD-ROM zum Erlernen des
ophthalmologischen Untersuchungsganges.

Bray, M. M. (1993). Effect of acth and glucocorticoids on lipid metabolism in the Japanese quail, *Coturnix coturnix japonica*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **105**(4): 689-696.

Brockhaus-Enzyklopädie (1998). Brockhaus-Enzyklopädie. Mannheim, Bibliographisches Institut & FA Brockhaus AG.

Cabanac, M. & Aizawa, S. (2000). Fever and tachycardia in a bird (*Gallus domesticus*) after simple handling. *Physiology & Behavior* **69**(4-5): 541-545.

Carsia, R. V. & Harvey, S. (2000). Adrenals. In: Sturkie's Avian Physiology Fifth Edition. Whittow, C. G. (Ed.). San Diego, Academic Press: 489-522.

Cockrem, J. F. (2007). Stress, corticosterone responses and avian personalities. *Journal of Ornithology* **148**(Suppl 2): 169-178.

Cockrem, J. F. & Silverin, B. (2001). Variation within and between birds in corticosterone responses of great tits (*Parus major*). *General and Comparative Endocrinology* **125**: 197-206.

- Creel, S. (2001). Social dominance and stress hormones. *Trends in Ecology & Evolution* **16**(9): 491-497.
- Croney, C. C., Prince-Kelly, N. & Meller, C. L. (2007). A note on social dominance and learning ability in the domestic chicken (*Gallus gallus*). *Applied Animal Behaviour Science* **105**: 254-258.
- Dawson, W. R. & Whittow, G. C. (2000). Regulation of Body Temperature. In: Sturkie's Avian Physiology Fifth Edition. Whittow, C. G. (Ed.). San Diego, Academic Press: 343-390.
- Dehnhard, M., Schreer, A., Krone, O., Jewgenow, K., Krause, M. & Grossmann, R. (2003). Measurement of plasma corticosterone and fecal glucocorticoid metabolites in the chicken (*Gallus domesticus*), the great cormorant (*Phalacrocorax carbo*), and the goshawk (*Accipiter gentilis*). *General and Comparative Endocrinology* **131**: 345-352.
- El-Lethey, H., Jungi, T. W. & Huber-Eicher, B. (2001). Effects of feeding corticosterone and housing conditions on feather pecking in laying hens (*Gallus gallus domesticus*). *Physiology & Behavior* **73**(1-2): 243-251.
- El Hage, W., Griebel, G. & Belzung, C. (2006). Long-term impaired memory following predatory stress in mice. *Physiology & Behavior* **87**(1): 45-50.
- Ellendorff, F. (2006). Geflügel. In: Tierzucht. Prof. Dr. Dr. h.c. von Lengerken, G., Prof. Dr. Dr. Dr. h.c. Ellendorff, F. & Prof. Dr. von Lengerken, J. (Hrg.). Stuttgart, Eugen Ulmer GmbH & Co: 450-472.
- Fraisse, F. & Cockrem, J. F. (2006). Corticosterone and fear behaviour in white and brown caged laying hens *British Poultry Science* **47**(2): 110-119.
- Freeman, B. M., Manning, A. C. C. & Flack, I. H. (1983). Adrenal cortical activity in the domestic fowl, *Gallus domesticus*, following withdrawal of water or food. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **74**(3): 639-641.
- Fromm, M. & Gäbel, G. (2010). Niere. In: Physiologie der Haustiere. von Engelhardt, W. & Breves, G. (Hrg.). Stuttgart, Enke Verlag: 292-320.
- Gallup, G. G., Jr. (1974). Animal hypnosis: Factual status of a fictional concept. *Psychological Bulletin* **81**(11): 836-853.
- Gallup, G. G., Jr., Ledbetter, D. H. & Maser, J. D. (1976). Strain Differences Among Chickens in Tonic Immobility: Evidence for an Emotionality Component. *Journal of Comparative and Physiological Psychology* **90**(11): 1075-1081.
- Hummel, G. (2000). Anatomie und Physiologie der Vögel. Stuttgart, Verlag Eugen Ulmer GmbH & Co.
- Hutchinson, D. S., Summers, R. J. & Gibbs, M. E. (2008). Energy metabolism and memory processing: Role of glucose transport and glycogen in responses to adrenoceptor activation in the chicken. *Brain Research Bulletin* **76**: 224-234.

- Kadono, H., Besch, E. L. & Usami, E. (1981). Body temperature, oviposition, and food intake in the hen during continuous light. *Journal of Applied Physiology* **51**(5): 1145-1149.
- Knowles, T. G. & Broom, D. M. (1990). The handling and transport of broilers and spent hens. *Applied Animal Behaviour Science* **28**(1-2): 75-91.
- König, H. E. & Liebich, H.-G. (2001). Einführung. In: Anatomie und Propädeutik des Geflügels. König, H. E. & Liebich, H.-G. (Hrg.). Stuttgart, F. K. Schattauer Verlagsgesellschaft mbH: 1-8.
- König, H. E. & Liebich, H.-G. (2001). Fixationstechniken. In: Anatomie und Propädeutik des Geflügels. Korbelt, R., Reese, S. & Liebich, H.-G. (Hrg.). Stuttgart, Schattauer Verlagsgesellschaft mbH: 251-264.
- König, H. E., Misek, I. & Liebich, H.-G. (2001). Nervensystem. In: Anatomie und Propädeutik des Geflügels. König, H. E. & Liebich, H.-G. (Hrg.). Stuttgart, Schattauer Verlagsgesellschaft mbH: 169-188.
- König, H. E. & Weissengruber, G. (2001). Endokrine Drüsen. In: Anatomie und Propädeutik des Geflügels. König, H. E. & Liebich, H.-G. (Hrg.). Stuttgart, F. K. Schattauer Verlagsgesellschaft mbH: 192.
- Krause, T. E., Naguib, M. & Petow, S. (2008). Effects of intra-hippocampal D-AP5 injections on one trial passive avoidance learning in adult laying hens (*Gallus gallus domesticus*). *Acta Neurobiologiae Experimentalis* **68**: 494-501.
- Krause, T. E., Naguib, M., Trillmich, F. & Schrader, L. (2006). The effects of short term enrichment on learning in chickens from a laying strain (*Gallus gallus domesticus*). *Applied Animal Behaviour Science* **101**(3-4): 318-327.
- Kräußlich, H. & Brem, G. (1997). Tierzucht und allgemeine Landwirtschaftslehre für Tiermediziner. Stuttgart, Ferdinand Enke Verlag.
- Kühne, F., Adler, S. & Sauerbrey, A. F. C. (2011). Redirected behavior in learning tasks: The commercial laying hen (*Gallus gallus domesticus*) as model. *Poultry Science* **90**(9): 1859-1866.
- Lindqvist, C. & Jensen, P. (2009). Domestication and stress effects on contrafreeloading and spatial learning performance in red jungle fowl (*Gallus gallus*) and White Leghorn layers. *Behavioural Processes* **81**(1): 80-84.
- Lipp, H. P., Pleskacheva, M. G., Gossweiler, H., Ricceri, L., Smirnova, A. A., Garin, N. N., Perepiolkina, O. P., Voronkov, D. N., Kuptsov, P. A. & Dell'Omo, G. (2001). A large outdoor radial maze for comparative studies in birds and mammals. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **25**(1): 83-99.
- Littin, K. E. & Cockrem, J. F. (2001). Individual variation in corticosterone secretion in laying hens. *British Poultry Science* **42**: 536-546.

Liu, L., Song, Z., Sheikahmadi, A., Jiao, H. & Lin, H. (2012). Effect of Corticosterone on Gene Expression of Feed Intake Regulatory Peptides in Laying Hens. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology* **162**(4): 81-87.

Mitchell, M. A. & Kettlewell, P. J. (1998). Physiological stress and welfare of broiler chickens in transit: solutions not problems! *Poultry Science* **77**(12): 1803-1814.

Möstl, E. (2010). Spezielle Endokrinologie. In: *Physiologie der Haustiere*. von Engelhardt, W. & Breves, G. (Hrsg.). Stuttgart, Enke Verlag: 515-534.

Nijdam, E., Delezie, E., Lambooij, E., Nabuurs, M. J. A., Decuypere, E. & Stegeman, J. A. (2005). Feed withdrawal of broilers before transport changes plasma hormone and metabolite concentrations. *Poultry Science* **84**(7): 1146-1152.

Patterson-Kane, E., Nicol, C. J., Foster, T. M. & Temple, W. (1997). Limited perception of video images by domestic hens. *Animal Behaviour* **53**(5): 951-963.

Pilo, B., John, T. M., George, J. C. & Etches, R. J. (1985). Liver Na⁺K⁺-ATPase activity and circulating levels of corticosterone and thyroid hormones following cold and heat exposure in the pigeon. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology* **80**(1): 103-106.

Remage-Healey, L. & Romero, L. M. (2001). Corticosterone and insulin interact to regulate glucose and triglyceride levels during stress in a bird. *American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology* **281**(3): R994-R1003.

Rosales, A. G. (1994). Managing stress in broiler breeders: a review. *The Journal of Applied Poultry Research* **3**: 199-207.

Rose, S. P. R. (2000). God's Organism? The Chick as a Model System for Memory Studies. *Learning & Memory* **7**(1): 1-17.

Sandi, C. & Rose, S. P. R. (1994). Corticosteroid Receptor Antagonists are Amnestic for Passive Avoidance Learning in Day-old Chicks. *European Journal of Neuroscience* **6**(8): 1292-1297.

Sandi, C. & Rose, S. P. R. (1994). Corticosterone enhances long-term retention in one-day-old chicks trained in a weak passive avoidance learning paradigm. *Brain Research* **647**(1): 106-112.

Sandi, C. & Rose, S. P. R. (1997). Training-dependent biphasic effects of corticosterone in memory formation for a passive avoidance task in chicks. *Psychopharmacology* **133**(2): 152.

Schütz, K. E., Forkman, B. & Jensen, P. (2001). Domestication effects on foraging strategy, social behaviour and different fear responses: a comparison between the red junglefowl (*Gallus gallus*) and a modern layer strain. *Applied Animal Behaviour Science* **74**(1): 1-14.

Selye, H. (1974). *Stress*. München, R. Piper & Co Verlag.

- Siegel, H. S. (1980). Physiological stress in birds *BioScience* **30**(8): 529-534.
- Silbernagl, S. & Despopoulos, A. (2001). Taschenatlas der Physiologie. Stuttgart, New York, Georg Thieme Verlag.
- Steinlechner, S. (2010). Wärmebilanz und Temperaturregulation. In: Physiologie der Haustiere. von Engelhardt, W. & Breves, G. (Hrg.). Stuttgart, Enke Verlag: 476-493.
- Tona, K., Onagbesan, O., Bruggeman, V., Collin, A., Berri, C., Duclos, M. J., Tesseraud, S., Buyse, J., Decuypere, E. & Yahav, S. (2008). Effects of heat conditioning at d 16 to 18 of incubation or during early broiler rearing on embryo physiology, post-hatch growth performance and heat tolerance. *Archiv für Geflügelkunde* **72**(2): 75-83.
- Voslarova, E., Chloupek, P., Vosmerova, P., Chloupek, J., Bedanova, I. & Vecerek, V. (2011). Time course changes in selected biochemical indices of broilers in response to pretransport handling. *Poultry Science* **90**(10): 2144-2152.
- Westerhof, I., Lumeij, J. T., Mol, J. A., Van Den Brom, W. E. & Runberk, A. (1992). In vivo studies on the effects of ovine corticotrophin-releasing hormone, arginine vasotocin, arginine vasopressin, and haloperidol on adrenocortical function in the racing pigeon (*Columba livia domestica*). *General and Comparative Endocrinology* **88**(1): 76-82.
- Wingfield, J. C., Vleck, C. M. & Moore, M. C. (1992). Seasonal changes of the adrenocortical response to stress in birds of the Sonoran desert. *Journal of Experimental Zoology* **264**(4): 419-428.
- Wood-Gush, D. G. M. & Gower, D. M. (1968). Studies on motivation in the feeding behaviour of the domestic cock. *Animal Behaviour* **16**(1): 101-107.
- Zhang, L., Yue, H. Y., Zhang, H. J., Xu, L., Wu, S. G., Yan, H. J., Gong, Y. S. & Qi, G. H. (2009). Transport stress in broilers: I. Blood metabolism, glycolytic potential, and meat quality. *Poultry Science* **88**(10): 2033-2041.
- Zhao, J. P., Lin, H., Jiao, H. C. & Song, Z. G. (2009). Corticosterone suppresses insulin- and NO-stimulated muscle glucose uptake in broiler chickens (*Gallus gallus domesticus*). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* **149**(3): 448-454.

9 Abkürzungsverzeichnis

ACTH	Adrenocorticotropic Hormone
ANOVA	Analysis of Variance
ATP	Adenosintriphosphat
AVT	Arginin-Vasotocin
CRF	Corticotropin Releasing Factor
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
F	Faktor
FFS	Freie Fettsäuren
HPA	Hypothalamo-Pituitary-Adrenal Axis
IMHV	Intermediate Medial Hyperstriatum Ventrale
LB	Lohmann Brown
LSL	Lohnmann Selected Leghorn
MESZ	Mitteuropäische Sommerzeit
MEZ	Mitteuropäische Zeit
min	Minuten
NADP	Nicotinamidadenindinukleotidphosphat
NEFA	Non Esterified Fatty Acids
o.g.	oben genannt
s.	siehe
SE	Standardfehler
s.u.	siehe unten
u.v.m.	und viele mehr
VK	Variationskoeffizient
ZP	Zeitpunkt

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. Stangassinger für die Überlassung des Themas, für die stets freundliche und gern gewährte wissenschaftliche Beratung und Unterstützung und für die Übernahme der Korrektur.

Ebenfalls möchte ich mich herzlich bei Frau Dr. Schneider für die tatkräftige Unterstützung beim Durchführen des experimentellen Studienabschnittes, sowie für ihre jederzeit gewährte fachliche Hilfe und ihren Rat bedanken. Mein Dank gilt auch allen Mitarbeitern des Instituts für Physiologie, die mir beim Erstellen meiner wissenschaftlichen Arbeit mit Rat und Tat zur Seite standen.

Bedanken möchte ich mich auch bei den Mitarbeitern der Klinik für Wiederkäuer in Oberschleißheim. Hierbei fand ich in der analytischen Probenauswertung sehr große Unterstützung.

Schließlich auch noch ein herzliches Dankeschön an meine Familie und engen Freunde. Danke, für Eure emotionale Unterstützung und Geduld und danke für entgegengebrachte Ratschläge und Korrekturvorschläge.